

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT

POUR OBTENIR

LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN-PIERRE BARLET

Chargé de Recherches à l'I.N.R.A.

ROLE DE LA CALCITONINE DANS LA RÉGULATION
DU MÉTABOLISME PHOSPHO-CALCIQUE
DES RUMINANTS.

CAS PARTICULIER :
LE SYNDROME VITULAIRE DE LA VACHE LAITIÈRE.

Soutenue publiquement le 26 juin 1971 devant la commission d'examen

MM. P. DELOST,	Professeur	Président
G. MILHAUD,	Professeur au C.H.U. St Antoine	Examineurs
A. D. CARE,	Directeur du Département de Physiologie endocrine, Rowett Research Institute	
G. MEYNIEL,	Doyen de la Faculté de Médecine	
M. BROCHART,	Directeur de Recherches à l'I.N.R.A.	
L. JOYON,	Professeur	

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT

POUR OBTENIR

LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN-PIERRE BARLET

Chargé de Recherches à l'I.N.R.A.

ROLE DE LA CALCITONINE DANS LA RÉGULATION
DU MÉTABOLISME PHOSPHO-CALCIQUE
DES RUMINANTS.

CAS PARTICULIER :
LE SYNDROME VITULAIRE DE LA VACHE LAITIÈRE.

Soutenue publiquement le 26 juin 1971 devant la commission d'examen

MM. P. DELOST,	Professeur	Président
G. MILHAUD,	Professeur au C.H.U. St Antoine	Examineurs
A. D. CARE,	Directeur du Département de Physiologie endocrine, Rowett Research Institute	
G. MEYNIEL,	Doyen de la Faculté de Médecine	
M. BROCHART,	Directeur de Recherches à l'I.N.R.A.	
L. JOYON,	Professeur	

1822

DEPARTMENT OF SCIENCE
UNIVERSITY OF CANTON



UNIVERSITE DE CLERMONT
FACULTE DES SCIENCES

(Année Scolaire 1970-1971)

Président de l'Université : M. KOHLMULLER Robert

Directeur de l'U.E.R. (Recherche) : M. GUILLAUME Marcel

PROFESSEURS

M. RAMBAUD René	Chimie
M. ROQUES Maurice	Géologie
M. LAPADU-HARGUES	Minéralogie
M. LUTZ Hubert	Biologie animale
M. RAOULT Gaston	Physique
M. CHAMPAGNAT Paul	Physiologie végétale
M. DUPLESSIS-KERGOMARD Alain	Chimie
M. AVAN Jean-Louis	Physique expérimentale
Mme HENNEQUIN Françoise	Mathématiques Pures
Melle BERTHET Ginette	Physique
M. LOISEAU Jean	Botanique
M. COMBE René	Physique
M. DE PUYTORAC Pierre	Zoologie
Mme AVAN Madeleine	Physique
Melle DONDON Marie-Louise	Chimie Physique
M. DELOST Paul	Physiologie animale
M. VIALARD André	Chimie
M. KOHLMULLER Robert	Chimie minérale
M. GUILLAUME Marcel	Algèbre
M. COMBE Jean	Physique
M. HENNEQUIN Paul	Mathématiques appliquées
M. L'HERITIER Philippe	Génétique
M. VESSIERE Roger	Chimie Organique
M. BAILLAUD Lucien	Botanique
M. BERNARD Maurice	Physique
M.	Chaire de Chimie Physique
M. ACCARY	Métallurgie au C.U.S.T.

PROFESSEURS ASSOCIES

M. ROCCOS Pantelis	Mathématiques Pures
M. PEREZ	" Appliquées

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. PETERLONGO Jean-Marc	Géologie
M. BATHIER Marcel	Physique
Melle DUCHER Suzanne	Chimie
M. FALGAS Maurice	Mathématiques Pures

M. MARTINET Pierre
 M. MAISONNEUVE Jacques
 M. CAPESTAN Michel
 M. LENOIR Marcel
 M. THOMAS Jean
 M. ISABELLE D'idier
 M. SOULAGE René
 M. COURDURoux Jean-Claude

Chimie
 Géologie
 Chimie
 Mathématiques Pures
 Physique
 Physique
 Géophysique générale
 Botanique

MAITRES DE CONFERENCES

M. DUFAURE Jean-Pierre
 M. BADRIKIAN Albert
 M. GRAIN Jean
 Mme BESSErRE Anne-Marie
 J. JEAN Claude
 M. LE THAN PHONG
 M. MIGNOT Jean-Pierre
 M. VELLEy Georges
 M. COUSSEINS Jean-Claude
 M. LEMAIRe Jacques
 M. CHADEYRAS Marcel
 M. BOILLAT Guy
 M. CADORET Robert
 P. LE MEN François
 M. GAGNY Claude
 M. LARPENT Jean-Paul
 M. BESSERRE Daniel
 M. ACKERMANN Patrick
 M. LHOMME Jean
 M. AUSLENDER Alfred
 M. IMBAUD
 M. COULOMBEAU

Cytophysiologie
 Mathématiques Appliquées
 Zoologie et Biologie Cellulaire
 Mathématiques Pures
 Physiologie Animale
 Mathématiques Pures
 Zoologie
 Psycho-Physiologie
 Chimie
 Chimie
 Mathématiques Pures
 Mathématiques Pures
 Physique
 Physique
 Géologie
 Microbiologie Appliquée C.U.S.T.
 Spectroscopie C.U.S.T.
 Electronique Automatique C.U.S.T.
 Chimie des Substances Nat. C.U.S.
 Mathématiques Appliquées
 Physique
 Chimie Organique physique C.U.S.

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. COFFI-N'KETSIA Barben
 M. DUSSAUCHOY

Mathématiques Pures
 Informatique C.U.S.T

Secrétaire Générale

Mme CHOPART Marie-Louise

ROLE DE LA CALCITONINE DANS LA REGULATION DU METABOLISME
PHOSPHO-CALCIQUE DES RUMINANTS.
CAS PARTICULIER : LE SYNDROME VITULAIRE DE LA VACHE LAITIERE.

par
Jean-Pierre BARLET

Institut National de la Recherche Agronomique
Station de Physiopathologie de la Nutrition
Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Theix
63 - Saint-Genès-Champanelle

S O M M A I R E

=====

DONNEES GENERALES SUR LE SYNDROME VITULAIRE DE LA VACHE LAITIERE ET SUR LA CALCITONINE

	Pages
A - <u>Le syndrome vitulaire de la vache laitière</u>	1
I - Historique.....	1
II - Importance économique.....	1
III - Manifestations cliniques et biochimiques.....	2
1) L'hypocalcémie vitulaire typique.....	2
2) La parésie vitulaire.....	3
IV - Manifestations cliniques de l'hypocalcémie chez d'autres espèces.....	4
V - Etiologie du syndrome vitulaire.....	6
1) Théorie de l'infection mammaire.....	6
2) Théorie du déficit parathyroïdien.....	7
B - <u>La calcitonine</u>	8
I - Calcitonine et thyrocalcitonine.....	8
II - Cellules sécrétrices et corps ultimobranchial.....	10
III - Dosage de la calcitonine.....	12
IV - Propriétés biochimiques.....	14
V - Mode d'action.....	15
1) Action sur l'os.....	15
2) Action sur le rein.....	16
3) Action sur l'absorption calcique intestinale.....	17
VI - Mécanismes d'action de l'hormone au niveau cellulaire.....	18
VII - Régulation de la sécrétion de la calcitonine.....	19
1) Rôle de la calcémie.....	19
2) Relation entre les cellules C et les autres glandes endocrines.....	20
VIII - Métabolisme.....	21

TECHNIQUES GENERALES

A - <u>Animaux et conditions d'élevage</u>	23
I - Rats.....	23
II - Ovins et Bovins.....	23

B - <u>Techniques opératoires</u>	21
I - Prélèvements de sang.....	21
II - Perfusions endoveineuses.....	22
III - Thyroïdectomies.....	22
C - <u>Préparation de la calcitonine</u>	24
D - <u>Dosage biologique de la calcitonine</u>	26
E - <u>Dosage des minéraux et du glucose plasmatique</u>	29
I - Calcium et magnésium.....	29
II - Phosphore minéral et glucose.....	29
F - <u>Présentation des résultats et calculs statistiques</u>	30

RESULTATS

- Première partie -

- VARIATIONS DE LA CALCÉMIE, DE LA PHOSPHATÉMIE, DE LA MAGNÉSÉMIE ET DE LA GLYCÉMIE CHEZ LES RUMINANTS A LA PARTURITION -

A - <u>Matériel et méthodes</u>	31
B - <u>Résultats</u>	32
I - Chez les vaches en lactation.....	32
II - Chez les vaches parturientes normales.....	33
III - Chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire.....	33
IV - Effet de l'insufflation mammaire et de l'injection calcique sur la calcémie de la vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire..	39
V - Chez la Chèvre et la Brebis.....	39
C - <u>Discussion et conclusions</u>	42

- Deuxième partie -

- EFFETS DE LA CALCITONINE EXOGENE SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DES RUMINANTS -

<u>CHAPITRE I : REPOSE DE LA VACHE A L'ADMINISTRATION DE CALCITONINE</u> ...	45
A - Matériel et méthodes.....	45
B - Résultats.....	46
C - Discussion et conclusions.....	46
<u>CHAPITRE II : INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR LA REPOSE DES BOVINS A LA CALCITONINE</u>	49

A - <u>Influence de l'âge : effet de la calcitonine chez le veau.....</u>	49
B - <u>Influence du sexe et du stade physiologique de l'animal.....</u>	52
C - <u>Influence du jeûne hydrique.....</u>	57
D - <u>Influence de la thyroïdectomie.....</u>	61
E - <u>Influence du degré de purification et de l'origine de la calcitonine.....</u>	64
F - <u>Influence du mode d'administration.....</u>	70
G - <u>Influence de la répétition des injections chez le même animal....</u>	71

CHAPITRE III : <u>INDUCTION EXPERIMENTALE D'UN SYNDROME CLINIQUEMENT ET BIOCHIMIQUEMENT ANALOGUE AU SYNDROME VITULAIRE.....</u>	78
A - <u>Matériel et méthodes.....</u>	78
B - <u>Résultats.....</u>	79
C - <u>Discussion et conclusions.....</u>	83

CHAPITRE IV : <u>EFFETS DE LA CALCITONINE CHEZ LA BREBIS.....</u>	84
A - <u>Influence de la nature de la calcitonine.....</u>	84
B - <u>Influence d'un traitement par la thyroïdostimuline sur la réponse de la Brebis à la calcitonine.....</u>	87
C - <u>Comparaison des effets biochimiques et cliniques d'une perfusion prolongée de calcitonine chez la Vache et chez la Brebis.....</u>	88

- Troisième partie -

- LA SECRETION DE CALCITONINE CHEZ LE RUMINANT -

CHAPITRE I : <u>OBSERVATIONS SUR LES CELLULES C OVINES ET BOVINES.....</u>	93
A - <u>Matériel et méthodes.....</u>	93
B - <u>Résultats.....</u>	95
C - <u>Discussion et conclusions.....</u>	98

CHAPITRE II : <u>DOSE BIOLOGIQUE DE LA CALCITONINE THYROIDIENNE ET PLASMATIQUE CHEZ LE RUMINANT.....</u>	100
A - <u>Matériel et méthodes.....</u>	100
B - <u>Résultats.....</u>	101
1 - Chez le bovin mâle.....	101
2 - Chez la vache tarie ou en lactation.....	101
3 - Chez la vache parturiente.....	104
4 - Chez le Mouton.....	105

C - <u>Discussion et conclusions</u>	109
<u>CHAPITRE III : OBSERVATIONS SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DU GLUCAGON</u> ...	111
A - <u>Chez le Rat</u>	111
B - <u>Chez les Bovins</u>	116
1 - Effet du glucagon sur la calcémie de la Vache.....	116
2 - Effet du glucagon sur la sécrétion de calcitonine.....	117
3 - Glucagonémie de la vache parturiente.....	121
4 - Synthèse des observations relatives à l'effet hypocalcémiant du glucagon chez les Bovins.....	122
<u>CHAPITRE IV : INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR LA SECRETION DE CALCITONINE CHEZ LES RUMINANTS</u>	126
A - <u>Hypercalcémie provoquée par la vitamine D</u>	126
B - <u>Magnésium</u>	129
C - <u>Iode et antithyroïdiens</u>	132
D - <u>Thyréostimuline</u>	137
E - <u>Adrénaline et noradrénaline</u>	139
F - <u>Théophylline</u>	144
G - <u>Framycétine</u>	149
H - <u>Bloqueurs adrénergiques α et β</u>	153
I - <u>Prolactine</u>	160
J - <u>Insufflation mammaire</u>	163
<u>CHAPITRE IV : DISCUSSION GENERALE DES OBSERVATIONS RELATIVES A L'ACTION ET A LA SECRETION DE LA CALCITONINE CHEZ LES RUMINANTS</u>	166
A - <u>Effet de la calcitonine chez les Ruminants</u>	166
B - <u>Rôle de la calcitonine dans le syndrome vitulaire</u>	166
C - <u>Causes probables d'une sécrétion accrue de calcitonine chez certaines vaches parturientes</u>	167
D - <u>Conséquences pratiques</u>	172
- <u>RESUME</u>	176
- <u>RESUME ANGLAIS</u>	178
- <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	181

Il nous est particulièrement agréable de témoigner ici, à Monsieur le Professeur DELOST, l'expression de notre profonde reconnaissance : nous lui devons notre initiation à l'Endocrinologie et à la Recherche en Physiologie. Nous le remercions de la confiance qu'il nous a toujours témoignée et des conseils judicieux qu'il nous a apportés.

A nos premiers pas dans le domaine de la Recherche, nous nous faisons un honneur d'associer Messieurs BROCHART et LARVOR. En nous accueillant parmi le personnel scientifique de son laboratoire en 1966, Monsieur BROCHART nous a fait preuve de l'estime qu'il nous portait. Monsieur LARVOR nous a toujours guidé avec sollicitude dans un domaine qui lui tient à coeur, et permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Nous leur adressons nos très sincères remerciements.

Que Monsieur le Professeur MILHAUD, qui a toujours suivi nos travaux avec bienveillance et haute compétence, trouve ici l'expression de notre gratitude et de notre respectueuse admiration.

Monsieur le Docteur CARE nous a initié aux techniques de la perfusion de la thyroïde in situ chez les Ruminants. Il a bien voulu nous faire l'honneur et le plaisir d'effectuer un très long déplacement pour venir juger notre travail. Qu'il soit assuré de notre respectueux attachement et de notre profonde reconnaissance.

Monsieur le Doyen MEYNIEL, spécialiste de la thyroïde, nous honore aujourd'hui en siégeant dans le jury. Sa présence ici témoigne des collaborations fructueuses établies entre la Faculté de Médecine et le C.R.Z.V. de Theix. Nous voudrions lui exprimer notre admiration et nos sincères remerciements.

Monsieur le Professeur JOYON, dont l'enseignement détermina notre orientation vers la Biologie, a très aimablement accepté de faire partie du jury. Nous tenons à lui adresser nos remerciements respectueux pour les conseils et l'accueil bienveillant qu'il nous a toujours réservés.

Monsieur Jean-Pierre COLLIN, Maître Assistant à la Faculté des Sciences, a bien voulu nous consacrer un temps important pour nous apporter une aide particulièrement amicale et efficace lors de notre travail de cytophysiologie. Qu'il soit assuré de notre profonde reconnaissance.

Messieurs les Docteur R. ASSAN et G. ROSSELIN (I.N.S.E.R.M., Hôtel Dieu, Paris), D.H. KARG et D. SCHAM (Institut de Physiologie de Munich) ont accepté de doser, par radioimmunologie, à notre intention

le glucagon et la prolactine sur certains échantillons de plasmas bovins. Messieurs les Docteur J.W. BASTIAN (Armour Pharmaceutical Company), D.H. COPP (Faculté de Médecine de Vancouver), B. GUILLOTEAU (Eli Lilly France), A. KALISHEVSKY (Smith Kline and French Laboratories), C. LAURENT (Laboratoires Novo), G. PEICHERT (N.I.H., Bethesda), C.J. ROBINSON (Medical Research Council) et C.W. RITTEL (Ciba, Bâle) nous ont fourni les hormones et produits pharmaceutiques utilisés pour ce travail. Monsieur le Docteur ROCHE (Vétérinaire - 64 - Lembeye) a eu l'amabilité de prélever et de conserver de nombreux plasmas d'animaux atteints d'hypocalcémie vitulaire. Monsieur M. JOURNET, Maître de Recherches à l'I.N.R.A., a mis à notre disposition les animaux dont il disposait au C.R.Z.V. de Theix. Nous tenons à les remercier tous, pour nous avoir ainsi permis de réaliser notre expérimentation.

Enfin le personnel de la Station de Physiopathologie de la Nutrition nous a apporté une aide amicale, en particulier M.C. MICHEL et G. CABELLO pour les dosages à l'autoanalyseur, Madame BELLANGER, M. GENEST, P. NOVEL et J. OVERWATER pour les expérimentations, P. CHAGNAUD, P. LAMBY, J.P. LASSALAS, P. MONTEL et R. ROUX pour les soins aux animaux, et Mademoiselle CHANIER pour la dactylographie et la mise en pages de ce manuscrit : que tous trouvent ici l'expression de nos sincères remerciements.

DONNEES GENERALES SUR LE SYNDROME VITULAIRE

DE LA VACHE LAITIERE ET SUR LA CALCITONINE

Les maladies métaboliques des Ruminants font l'objet de divers travaux à la Station de Physiopathologie de la Nutrition. Parmi ceux-ci, l'étude de l'hypocalcémie vitulaire de la Vache laitière a pu être considérée sous un angle entièrement nouveau depuis la découverte de la calcitonine ; c'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail. Avant de rapporter nos propres expériences, il nous a paru nécessaire de faire une revue actuelle de ce problème, même en mentionnant parfois des observations postérieures au début de nos recherches.

A - LE SYNDROME VITULAIRE DE LA VACHE LAITIERE.

Le syndrome vitulaire (ou hypocalcémie vitulaire, fièvre vitulaire) se manifeste dans les heures suivant la parturition. Caractérisé par un état comateux, associé à une hypocalcémie, il aboutit rapidement, en l'absence de traitement, à la mort de l'animal. Le terme de fièvre vitulaire est à éviter puisque les animaux atteints ne sont jamais en hyperthermie.

I - HISTORIQUE.

L'hypocalcémie vitulaire ne semble pas avoir été décrite avant la fin du 18^e siècle (FISCH, 1927). La première description du syndrome aurait été réalisée en 1793 par un vétérinaire allemand, nommé EBERHARDT, et c'est en 1837 qu'elle fut rapportée pour la première fois en France par FABRE dans le "Vétérinaire Campagnard" (HUTYRA, MAREK et MANNIGER, 1938). Aujourd'hui, probablement du fait des fortes productions laitières des animaux, l'hypocalcémie vitulaire est connue des éleveurs de vaches laitières de tous les pays du monde, dans certains desquels elle constitue un problème économique important.

II - IMPORTANCE ECONOMIQUE.

En France, en 1959, le nombre de cas annuels s'établissait à environ 150.000, ce qui indiquait qu'environ 1,5 % des vaches étaient atteintes, la mort survenant dans 1,5 % des cas. Les pertes annuelles

pouvaient alors être estimées à environ 10 millions de francs (LARVOR, BROCHART et THERET, 1961). Une enquête plus récente a mis en évidence une recrudescence des cas d'hypocalcémie vitulaire : en 1966, le syndrome survenait chez 3,4 % des vaches laitières et occasionnait la perte d'approximativement 100 millions de litres de lait (BRION, 1967). Cette augmentation du nombre des cas, qui paraît coïncider avec une intensification de l'élevage en vue d'accroître la production annuelle de chaque animal (FERRANDO, CHARTON et CORNETTE, 1960), a d'ailleurs été constatée dans divers pays étrangers tels que la Scandinavie (MAKELA, 1963), l'Afrique du Sud (VAN DER WALT, ADELAAR et TERBLANCHE, 1966), la Grande-Bretagne (PAYNE, 1968), les Etats-Unis (LITTLEDIKE, WHIPP et SCHROEDER, 1969).

De plus, les cas atypiques répondant très mal à la thérapeutique habituelle à base d'injections calciques et nécessitant la plupart du temps l'abattage de l'animal, semblent augmenter chaque année, en France (LARVOR, BROCHART et THERET, 1961) comme à l'étranger (FENWICK, 1969).

III - MANIFESTATIONS CLINIQUES ET BIOCHIMIQUES.

Chez la Vache, la parturition est toujours associée à une baisse de la calcémie et de la phosphatémie, l'une et l'autre de l'ordre de 1 à 2 mg/100 ml, qui passent inaperçues car elles n'entraînent pas de signes cliniques nets (MOODIE, MARR et ROBERTSON, 1955). Cependant, dans certains cas, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie peuvent s'exacerber et aboutir aux manifestations cliniques du syndrome vitulaire, lequel comporte deux variantes cliniques principales :

- L'HYPOCALCEMIE VITULAIRE TYPIQUE (PARTURIENT PAREISIS, MILK FEVER) :

Elle survient, dans 90 % des cas, dans les 24 h qui suivent la parturition. Elle se manifeste par une paraplégie ou une paralysie, accompagnée d'hypoesthésie (surtout au niveau des extrémités). L'animal, comateux, en décubitus latéral complet, a fréquemment la tête repliée sur le flanc dans une position d'auto-auscultation caractéristique. On note également de la constipation, associée à une tendance à la météorisation. Le rythme cardiaque, variant normalement entre 60 et 80 pulsations par minute, s'élève souvent à plus de 100. La température corporelle s'abaisse généralement de 38°5 à 37°C ou moins. Le réflexe pupillaire disparaît dans la plupart des cas. Enfin, certains animaux, même comateux, présentent des tremblements ou des convulsions sporadiques qui se traduisent surtout par une agitation désordonnée de la tête et des

membres postérieurs (HEMSLEY, 1957).

L'hypocalcémie vitulaire classique survient rarement avant le troisième vêlage. Les récidives aux vêlages successifs sont la règle chez 75 % des animaux (BRION, 1967).

Le traitement consiste en une injection de sels de calcium (gluconate, glutamate) qui donne des résultats rapides et spectaculaires, mais ne supprime pas les rechutes. Celles-ci sont fréquentes à 24 h d'intervalle (LARVOR, BROCHART et THERET, 1961). Par contre, une thérapeutique ancienne, consistant à injecter de l'air dans la mamelle des animaux (insufflation mammaire) les élimine totalement (ROBERTSON, 1949), tout en présentant d'autres inconvénients sérieux (risque de mammite).

- LA PARESIE VITULAIRE (CREEPER COW, DOWNER COW SYNDROME)

A côté de ces cas classiques, on observe de plus en plus fréquemment depuis une dizaine d'années, des cas atypiques désignés par le terme de parésie vitulaire (BERTHELON, 1958). Contrairement à l'hypocalcémie vitulaire, la parésie peut survenir de 2 jours à 2 mois après le vêlage (LARVOR, BROCHART et THERET, 1961). Elle se manifeste essentiellement par une paralysie au niveau du train postérieur, ce qui oblige l'animal à rester couché. Mais celui-ci n'est pas comateux, il n'y a pas hypothermie, et très souvent, il continue à s'alimenter normalement (DELAFOLIE, 1963). Les injections calciques sont toujours inefficaces. Les effets de l'insufflation mammaire paraissent variables selon les cas (BERTHELON, 1958 ; LARVOR, BROCHART et THERET, 1961). L'absence d'une thérapeutique efficace nécessite très souvent l'abattage de ces animaux.

Enfin, certaines vaches présentent une hypocalcémie importante (calcémie inférieure à 7 mg/100 ml) dans les heures suivant la parturition ne manifestent aucun symptôme clinique (MAYER, RAMBERG et KRONFELD, 1966b) ou seulement des symptômes atténués : diminution de l'appétit, indifférence à l'entourage, somnolence, légers tremblements au niveau des masses musculaires ("Bordeline cows") (VAN SOEST et BLOSSER, 1954).

Bien qu'il soit impossible d'établir une corrélation entre le degré de l'hypocalcémie et les modifications du comportement, dans les cas classiques, on observe toujours une chute importante de la calcémie (calcémie inférieure à 6 mg/100 ml) (LITTLE et WRIGHT, 1925), de la phosphatémie (phosphatémie inférieure à 3 mg/100 ml, normale 3-6 mg/100 ml)

(FISCH, 1929). La magnésémie est légèrement augmentée ou peu modifiée (MARR, MOODIE et ROBERTSON, 1955).

L'excrétion urinaire du calcium et du phosphore chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire (0,11 et 0,03 g/j respectivement) n'est pas significativement différente de celle observée chez les vaches normales (0,4 et 0,06 g/j) au moment du vêlage et l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie observées ne peuvent provenir d'une excrétion accrue de ces électrolytes (BLOSSER et SMITH, 1953).

Les fluctuations de la kaliémie et de la natrémie paraissent variables selon les animaux. Néanmoins, il semble que dans l'hypocalcémie vitulaire typique, on assiste à une baisse de la natrémie, associée à une hausse de la kaliémie et de la chlorémie (WARD, 1956 ; WARD et col., 1953). On observe également une élévation de la glycémie, du taux des acides pyruvique et lactique, tandis que celui de l'acide citrique a tendance à diminuer légèrement et de façon non significative (BLOSSER et SMITH, 1953 ; WARD et col., 1953 ; VAN SOEST et BLOSSER, 1954). Enfin, chez les vaches qui présentent le syndrome vitulaire le jour de la parturition, l'hématocrite serait significativement plus élevé que chez les vaches normales (42 au lieu de 37 %) (RYDBERG, 1969).

Dans les cas de parésie, l'hypocalcémie est généralement peu accentuée ; par contre, l'hypophosphatémie paraît être plus intense que dans les cas d'hypocalcémie typique (HALLGREEN, 1955 ; LARVOR, BROCHART et THERET, 1961 ; DELAFOLIE, 1963). A notre connaissance, aucune étude détaillée des divers éléments plasmatiques minéraux et organiques n'a été jusqu'à présent effectuée chez les vaches atteintes de parésie. Il semble cependant que la légère hypocalcémie observée chez les vaches parétiques soit due entièrement à une baisse du calcium lié aux protéines, et non à une baisse du calcium ionisé (HALLGREEN, CARLSTROM et JONSSON, 1959).

IV. MANIFESTATIONS CLINIQUES DE L'HYPOCALCEMIE CHEZ D'AUTRES ESPECES.

Un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire peut être observé chez certaines chèvres dans les jours suivant la parturition (LINZELL, 1965). Des troubles survenant au moment de l'agnelage et guéris, comme l'hypocalcémie vitulaire, par injection calcique ou insufflation mammaire ont été signalés chez la Brebis (GREIG, 1929). Les longues marches effectuées en fin de gestation paraissent susceptibles de déclencher une hypocalcémie (ASBURY, 1962). Cependant, à notre connaissance, en France, aucun symptôme lié à une hypocalcémie n'a

été rencontré chez la Brebis, même de race laitière. On ne peut donc pas exclure la possibilité que les hypocalcémies observées chez ces animaux soient liées à une hypomagnésémie primaire (tétanie d'herbage) (HEMINGWAY et RITCHIE, 1965) qui, chez le Ruminant, entraîne une hypocalcémie (LARVOR GIRARD et BROCHART, 1964).

C'est également ce qui semble se passer chez certaines juments, chez lesquelles on a observé des crises de tétanie associées à une hypocalcémie qui paraît secondaire à une hypomagnésémie (MENEZ, 1966).

Alors que chez les Bovins l'hypocalcémie inhibe la transmission de l'influx nerveux au niveau des plaques motrices, il n'en est pas de même chez les autres espèces, où l'hypocalcémie se traduit généralement par une tétanie (BOWEN, BLACKMON et HEAVNER, 1970).

On sait par exemple depuis longtemps qu'il en est ainsi chez le Chien (DRAGSTED, SUDAN et PHILLIPS, 1924). Après parathyroïdectomie, en 48 h la calcémie s'abaisse de 10 à moins de 5 mg/100 ml, alors que la phosphatémie s'élève de 4 à 6 mg/100 ml ou plus. Les crises de tétanie apparaissent 3 à 8 jours après l'opération, mais elles sont toujours précédées, d'au moins 24 h, par des signes mineurs (hypertonie, clonies, crises tachypnéiques ou polynéiques lorsque l'hypertonie est établie). Les crises sont de 2 types :

- les crises toniques, toujours suivies par une rémission temporaire
- les crises grand-mal, toujours suivies par un coma profond et dissipant lentement (plusieurs minutes) mais spontanément. Ces crises grand-mal sont tout à fait analogues à une épilepsie métabolique et liées à la perturbation calcique intracérébrale (CORRIOL et col., 1967).

L'Homme, dès son plus jeune âge, peut être sujet à l'hypocalcémie : la tétanie hypocalcémique est la cause de 20 à 30 % des convulsions du nourrisson (PAUPE et TOMKIEVICZ, 1962). Chez l'adulte, la tétanie chronique hypoparathyroïdienne s'accompagne d'hypocalcémie et d'hyperphosphatémie. A côté de cette affection, il existe une spasmodophilie chronique, normocalcémique, au cours de laquelle les taux plasmatiques de Ca total et ionisé et de magnésium sont normaux. Pourtant, dans l'une et l'autre affection, le signe de TROUSSEAU et le signe de CHVOSTEK sont apparents : en fait, dans la spasmodophilie normocalcémique, on observe toujours une hypocalcémie cellulaire qui suffit à expliquer l'hyperexcitabilité neuromusculaire (MILHAUD, BOURICHON et AUBERT, 1962).

Chez la Femme, les mots de tétanie et de grossesse sont liés

depuis très longtemps, puisque c'est précisément chez des femmes enceintes ou en lactation que STEINHEM en 1830 et TROUSSEAU en 1854 décrivirent les premiers cas de tétanie ou "contractures des nourrices". Un hyperparathyroïdisme fonctionnel semble apparaître normalement au cours de la grossesse, mais chez la femme enceinte hypoparathyroïdienne, on assiste à un effondrement de la calcémie associé à des signes d'hyperexcitabilité musculaire de type tétanique (KLOTZ et ZEITOUN, 1962).

V. ETIOLOGIE DU SYNDROME VITULAIRE

L'étiologie du syndrome vitulaire était encore totalement inconnue au moment où nous avons commencé notre travail. Depuis le début du XXème siècle, de très nombreuses hypothèses avaient été proposées, mais aucune n'était satisfaisante (HIBBS, 1950). Volontairement, nous n'insisterons que sur deux d'entre elles qui, bien qu'erronées, ont permis la mise au point des thérapeutiques (insufflation mammaire et injection calcique) couramment utilisées aujourd'hui.

- THEORIE DE L'INFECTION MAMMAIRE -

Selon AUGER (1926), un vétérinaire danois, J.J. SCHMIDT, en 1897, observant au microscope le colostrum des vaches hypocalcémiques, crut voir dans ce colostrum des corpuscules provenant d'une désintégration cellulaire consécutive à l'action d'une toxine infectieuse. En réalité, il s'agissait probablement des corpuscules de DONNE (mononucléaires bourrés de vacuoles lipidiques) que SCHMIDT aurait pu aussi bien voir dans le colostrum des vaches normales s'il avait approfondi ses investigations. Néanmoins, pour combattre "l'infection", il utilisa une solution d'iodure de potassium à 1 % qu'il injecta dans le pis des vaches atteintes. Ce traitement eut un succès prodigieux, réduisant la mortalité de 70 à environ 15 %.

Mais d'autres vétérinaires s'aperçurent bientôt que l'eau seule, ou même l'air, avait le même effet bénéfique. Dès 1901, les Suédois ANDERSON et EVERS commencèrent à utiliser couramment l'insufflation mammaire, ce qui réduisit la mortalité à 2 %. C'est un vétérinaire allemand, qui mit au point en 1908 l'appareil d'EVERS, encore actuellement utilisé (ZEHL, 1908).

Ainsi, une théorie erronée avait néanmoins permis la mise au point d'une thérapeutique efficace, et cette efficacité rendait la nature de l'affection encore plus mystérieuse ! Très peu de progrès furent alors réalisés jusqu'en 1925, date à laquelle fut proposée l'hypothèse d'un

déficit parathyroïdien comme cause de l'hypocalcémie vitulaire.

- THEORIE DU DEFICIT PARATHYROÏDIEN -

Cette théorie fut émise en 1925 par les Ecossais DRYERRE et GREIG, sans aucune preuve expérimentale, uniquement comme hypothèse de travail. Ils se basaient sur le fait qu'une insuffisance parathyroïdienne à la parturition pourrait entraîner une hypocalcémie importante du fait de la teneur élevée du lait en calcium. De plus, l'efficacité de l'insufflation mammaire pouvait être due à ce que, inhibant temporairement la sécrétion lactée, elle diminuait aussi les pertes calciques (DRYERRE et GREIG, 1925). L'hypocalcémie fut d'ailleurs confirmée la même année (LITTLE et WRIGHT, 1925). Dès 1929, SJOLLEMA recommandait le traitement du syndrome avec 300 à 400 ml d'une solution de $\text{Cl}_2 \text{Ca}$ à 10 pour cent, voisine de celles utilisées aujourd'hui. De plus, cette théorie, erronée comme nous le verrons par la suite, allait permettre de mettre au point une prophylaxie assez efficace. En effet, en diminuant les apports calciques, et en augmentant les apports phosphatés dans le mois précédant la parturition, on pouvait penser stimuler les parathyroïdes (BODA et COLE, 1954). Ainsi, en amenant pendant cette période le rapport Ca/P de la ration de 6/1 à 1/3,3, on diminuait de 36 % le nombre de cas d'hypocalcémie vitulaire dans un troupeau expérimental (BODA et COLE, 1956). De même, le fait de remplacer pendant le mois avant la parturition chez des vaches Jersiaises, le foin de luzerne riche en calcium par un foin de pré beaucoup plus pauvre en cet élément, diminuait le nombre de cas de 20 % chez les animaux Jersiais (BROCHART, 1964).

Bien que la méthode préventive basée sur une stimulation parathyroïdienne avant la parturition se soit révélée relativement efficace, plusieurs objections importantes concernant un éventuel déficit parathyroïdien avant la parturition avaient été soulevées :

- La parathyroïdectomie partielle ou totale effectuées chez la Vache avant la parturition n'induit pas chez celle-ci l'apparition du syndrome (STOTT et SMITH, 1957). De plus, les parathyroïdes de toutes les vaches augmentent de taille et semblent présenter des signes histologiques d'hyperactivité juste avant la parturition (STOTT et SMITH, 1964).

- Chez 52 vaches présentant le syndrome vitulaire, le rapport nucléoplasmique est significativement supérieur à celui obtenu chez

des vaches parturientes normales. Les parathyroïdes d'animaux atteints d'hypocalcémie vitulaire paraissent répondre normalement à l'hypocalcémie observée et ne semblent nullement en état d'hypofonctionnement (JONSSON, 1960 ; CAPEN et YOUNG, 1967a).

- Le syndrome vitulaire ne peut être prévenu ou guéri par des injections d'extrait parathyroïdien (MATTICK et LITTLE, 1933) ou de parathormone (JACKSON et col., 1962).

- Il n'y a pas de diminution de la phosphaturie chez la Vache, atteinte d'hypocalcémie vitulaire (BLOSSER et ALBRIGHT, 1956), ce qui, comme l'hypophosphatémie associée à l'hypocalcémie, est en contradiction avec l'hypothèse d'une inhibition parathyroïdienne.

- Les taux de parathormone (évalués par dosage radioimmunologique) sont nettement supérieurs chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire à ceux observés chez les vaches normales (SHERWOOD et col., 1966 ; SHERWOOD et col., 1968 ; MAYER et col., 1969).

Par contre, le plasma des vaches parturientes normales, chez qui on observe toujours une hypocalcémie plus ou moins accentuée, administré à des génisses de 1 an, induit chez celles-ci une hypocalcémie significative. Il semble donc qu'un facteur analogue à la calcitonine soit présent dans le plasma des vaches au moment de la parturition (OCHS, JACKSON, TIETZ, BOTTA et HILL, 1964).

B - LA CALCITONINE

Cette hormone hypocalcémiante et hypophosphatémiante découverte en 1961 par D.H. COPP pouvait donc être logiquement impliquée dans l'étiologie du syndrome vitulaire.

I. CALCITONINE ET THYROCALCITONINE

En perfusant le complexe thyroparathyroïdien du Chien avec une solution très riche en calcium, COPP observa que la chute du calcium plasmatique était beaucoup plus rapide que celle résultant de la parathyroïdectomie, donc de la suppression de la sécrétion de parathormone (PTH). De plus les extraits parathyroïdiens commerciaux semblaient contenir un facteur hypocalcémiant qui se manifestait plus rapidement (moins de 1 h) que l'effet hypercalcémiant classique. COPP en déduisait qu'il existait dans la parathyroïde 2 facteurs réglant la calcémie : la parathormone

et le facteur hypocalcémiant qu'il nomma calcitonine (COPP et CAMERON, 1961 ; COPP et CHENEY, 1962 ; COPP et col., 1962).

En comparant l'effet hypocalcémiant de la parathyroïdectomie par excision et par cauthérisation chez le Rat, HIRSCH et col., s'aperçurent que ce dernier procédé provoquait une hypocalcémie plus intense et beaucoup plus rapide que celle obtenue lors de l'ablation parathyroïdienne chirurgicale. Ils purent ainsi mettre en évidence que la thyroïde contenait elle aussi un facteur hypocalcémiant qu'ils nommèrent thyrocalcitonine (HIRSCH, GAUTHIER et MUNSON, 1963 ; HIRSCH, VOELKEL et MUNSON, 1964).

On pensait alors qu'il existait 2 hormones hypocalcémiantes, la calcitonine (parathyroïdienne) et la thyrocalcitonine (thyroïdienne).

Cependant chez la Chèvre, comme chez les autres ruminants, les parathyroïdes supérieures sont distinctes de la thyroïde. En perfusant ces parathyroïdes avec une solution hypercalcique on n'obtenait aucune hypocalcémie ; celle-ci ne se manifestait que lors de la perfusion de la thyroïde. De plus un extrait thyroïdien endogène provoquait chez la Chèvre une hypocalcémie significative : calcitonine et thyrocalcitonine paraissaient donc n'être qu'une seule et même hormone d'origine thyroïdienne (FOSTER et col., 1963). Néanmoins cette expérimentation n'était pas tellement concluante car la perfusion thyroïdienne irriguait également les parathyroïdes inférieures dans lesquelles pouvait être synthétisée l'hormone hypocalcémiante. Plusieurs auteurs restaient d'ailleurs convaincus de l'origine parathyroïdienne de la calcitonine (COPP et HENZE, 1964 ; CARE et KEYNES, 1964 ; CARE, COPP et HENZE, 1964).

Ce n'est qu'en 1964, à la suite d'un congrès international sur la parathormone, que l'origine thyroïdienne de la calcitonine chez les Mammifères fut unanimement admise (MAC INTYRE, FOSTER et KUMAR, 1965 ; CARE, KEYNES et DUNCAN, 1966).

L'hypothèse séduisante d'un thyrocalcitonine-releasing factor d'origine parathyroïdienne (GITTES et IRVIN, 1965) ne put jamais être confirmée. La présence des parathyroïdes n'assure aucune protection supplémentaire contre l'hypercalcémie induite expérimentalement chez le Rat (FOSTER, 1966 ; HIRSCH et MUNSON, 1966).

L'existence de la calcitonine est maintenant prouvée chez presque tous les Mammifères : Rat (TALMAGE, NEUENSCHWANDER et KRAINTZ, 1965 ; TASHJIAN, 1966), Ruminants (FOSTER et col., 1963 ; CHAUSMER, MITTLEMAN et WALLACH, 1966 ; COOPER et TASHJIAN, 1966), Porc (CARE, 1965 ; CARE, DUNCAN et WEBSTER, 1966), Homme (MILHAUD et col., 1965 ; ALIAPOULIOS,

VOELKEL et MUNSON, 1966) et Cheval et Ane (GAPPAI et MARONGIU, 1968).

II. CELLULES SECRETRICES ET CORPS ULTIMOBRANCHIAL

Bien que les cellules sécrétant la calcitonine soient connues depuis 1876 (BABER, 1876), leur rôle ne fut définitivement établi qu'en 1964 (FOSTER, MAC INTYRE et PEARSE, 1964). Elles furent alors nommées cellules C de par leur rôle dans la production de l'hormone (PEARSE, 1966a).

En effet l'augmentation considérable de leur activité enzymatique au cours d'une perfusion thyroïdienne in situ avec une solution hypercalcique chez le Chien (FOSTER, MAC INTYRE et PEARSE, 1964 ; TEITELBAUM, MOORE et SHIEBER, 1970), et la libération de leurs grains de sécrétion observée au microscope électronique dans les mêmes conditions chez le Rat (MATSUZAWA, 1966 ; MATSUZAWA et KUROSUMI, 1967) permettait de penser qu'elles étaient le siège de la synthèse et de l'excrétion de calcitonine.

Ces présomptions ont été confirmées par des travaux d'immunofluorescence sur les cellules C du Porc et du Chien (BUSSOLATI et PEARSE, 1967) du Mouton et du Lapin (KRACHT, HACHMEISTER et BREUSTED, 1968), contrairement d'ailleurs à ce que laissait présager certaine expérimentation antérieure défectueuse (HARGIS et col., 1965).

Ces cellules ont une activité sécrétoire intense dans les conditions d'hypercalcémie provoquée par la vitamine D chez la Vache (CAPEN et YOUNG, 1969), et le Rat (BUGNON et col., 1967 ; ANSARI, 1967 ; ERICSON, 1968 ; ROHR et HASLER, 1968), et chez ce dernier, par des administrations de parathormone (LIETZ, 1970), un régime alimentaire très riche en calcium (KIYAMA et col., 1968) ou une carence en magnésium (STACHURA et PEARSE, 1970). Un régime carencé en magnésium a un effet analogue chez le chien (ROJO-ORTEGA et col., 1971). Enfin, chez les Hibernants, elles semblent se vider de leurs grains de sécrétion durant l'hibernation, où l'on observe généralement un hyperparathyroïdisme (KAYSER, PETROVIC et PORTE, 1961) : c'est ce qui a été observé chez le Hérisson (PEARSE et WELSCH, 1970) et le Tenrec (OLIVEREAU et FONTAINE, 1970) : chez le Léroter hibernant les observations sont parfois contradictoires (OLIVEREAU et FONTAINE, 1970 ; STOECKEL, 1970).

Les cellules C sont plus volumineuses que les cellules de l'épithélium folliculaire. Leur forme est généralement ovoïde. Le noyau est clair, vésiculeux. Le cytoplasma est acidophile, riche en grains argyrophiles (AZZALI, 1964 ; AOI, 1966 ; YOUNG, CARE et DUNCAN, 1968 ; BRAUNSTEIN et STEPHENS, 1968).

Chez certaines espèces, Chèvre, Mouton (FALCK et col., 1962), Chauve-souris (GERSHON et NUNEZ, 1970) ces cellules ont une teneur très élevée en sérotonine et sont fluorescentes lorsqu'elles sont examinées au microscope en lumière U.V. . Chez la plupart des Mammifères, bien que non spontanément fluorescentes, elles sont capables de capter les pré-curseurs des amines biogènes, et possèdent une aminodécarboxylase très active (LARSON, OWMAN et SUNDLER, 1966 ; PEARSE, 1966c; ETCHEVERRY et ZIEHER, 1968). Ces deux propriétés, qui se retrouvent chez certaines cellules sécrétrices d'hormones polypeptidiques (cellules de l'antéhy-pophyse sécrétant ACTH, cellules $\alpha 1$ et $\alpha 2$ du pancréas, cellules entéro-chromaffines de l'intestin) ont permis de classer celles-ci dans le groupe des "APUD-cells" (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) (PEARSE, 1968 ; KRUSE, 1971). Toutes ces cellules paraissent d'ailleurs avoir une origine embryonnaire commune (PEARSE, 1966b).

L'origine des cellules C a été très controversée. Pour certains auteurs (NONIDEZ, 1932 ; PONSE et ALTSCHULER, 1938 ; ALTMAN, 1940 ; EHRENBRANDT, 1954 ; SANDRITTER et KLEIN, 1954 ; GABE, 1959, 1961) elles dériveraient d'une transformation des cellules folliculaires. Pour d'autres, au contraire, elles représenteraient des éléments d'origine extra-thyroï-dienne qui migrent au sein de la thyroïde au cours du développement em-bryonnaire (HURTHLE, 1896 ; SUNDER-PLASSMAN, 1941). Cette dernière inter-prétation paraît être la bonne.

En effet, chez les vertébrés inférieurs, la calcitonine, absente de la thyroïde, est présente en grandes quantités dans le corps ultimobran-chial. Il en est ainsi chez les Poissons (COPP, COCKCROFT, et KUEH, 1967b ; LOPEZ, DEVILLE et BAGOT, 1968), les Batraciens (ROBERTSON, 1968 ; GUARDA-BASSI et col., 1968). Les Reptiles (MOSELEY et col., 1968 ; CLARK, 1968) et la plupart des Oiseaux (COPP, COCKCROFT et KUEH, 1967a ; TAUBER, 1967 ; HURST et NEWCOMER, 1969 ; WITTERMAN, CHERIAN et RADDE, 1969). Les Colum-bidés semblent faire exception, puisque, chez eux, calcitonine et cellules C sont présentes à la fois dans la thyroïde et dans le corps ultimobran-chial (STOECKEL et PORTE, 1969 ; MOSELEY et col., 1968) contrairement à ce qui se passe chez la Poule où cellules C et calcitonine sont localisés au corps ultimobranchial (HACHMEISTER et col., 1969 ; HODGES, 1970 ; STOECKEL 1970). Les préparations argentiques de GAILLARD et THESING (1968) montrant une répartition diffuse des cellules C dans les follicules thyroïdiens de poulet paraissent surprenantes.

Le corps ultimobranchial est une glande bilobée originaire du plancher de la dernière poche branchiale. Il est présent chez tous les

vertébrés inférieurs adultes à l'exception des cyclostomes (COPP et col., 1968). Chez les Mammifères, les cellules du corps ultimobranchial fusionnent avec la thyroïde au cours du développement embryonnaire (ISHIKAWA, 1965 ; SATO et col., 1966 ; PEARSE et CARVALHEIRA, 1967 ; AUMULLER, 1968 ; STOECKEL et PORTE, 1970). Mais les cellules qui constituent ce corps ultimobranchial proviennent initialement de la crête neurale (PEARSE, 1970 ; LE DOUARIN et LE LIEVRE, 1970). C'est ce qui explique les propriétés communes aux cellules du groupe "APUD", provenant toutes de cette crête neurale (WEICHERT, 1970), et les localisations atypiques des cellules C dans le thymus ou les parathyroïdes (GALANTE et col., 1968) ou certaines tumeurs extrathyroïdiennes sécrétant de la calcitonine (SCHIMKE et col., 1968 ; MILHAUD, CALMETTES, RAYMOND, BIGNON et MOUKHTAR, 1970 ; MILHAUD, CALMETTES, DREYFUSS et MOUKHTAR, 1970).

III. DOSAGE DE LA CALCITONINE

La teneur en calcitonine des premiers extraits thyroïdiens obtenus était évaluée en mesurant l'effet hypocalcémiant de ces extraits chez des rats. Les résultats étaient alors exprimés en unités propres à chaque laboratoire (BAGHDIAantz et col., 1964 ; HIRSCH, VOELKEL et MUNSON, 1964 ; MILHAUD et col., 1965). La nécessité d'une unité internationale, donc d'un étalon commun, s'imposa alors rapidement.

1. Etalons et unité internationale

En 1965, une unité internationale définie par le Medical Research Council (M.R.C.) fut proposée. Une milliunité M.R.C. est le 1/10 de la quantité de calcitonine nécessaire pour provoquer en 60 mn une baisse de 10 % de la calcémie d'un rat σ de 150 g à jeun depuis 16 h (KUMAR et col., 1965).

En même temps, pour étalonner ses préparations de calcitonine, chaque laboratoire pouvait disposer de calcitonine "Standard A", délivrée par le M.R.C. Chaque ampoule, contient 10 mg d'extrait thyroïdien porcin, préparé selon BAGHDIAantz et col. (1964) qui possède une activité hypocalcémiante de 250 mU M.R.C. (0,25 U M.R.C.).

En 1967, la calcitonine "Standard A" fut remplacée par un "Standard B" beaucoup plus purifié (22 U M.R.C./mg) (PARSONS et WOODWARD, 1968). C'est cette préparation qui est encore utilisée aujourd'hui pour étalonner les calcitonines animales. Pour le dosage de la calcitonine humaine, un étalon de calcitonine humaine synthétique a été mis au point (BANGHAM et col., 1970).

2. Dosage biologique

a) In vivo : chez le Rat : le principe de la méthode (dosage 4 points) consiste à comparer l'effet hypocalcémiant de 2 doses connues de calcitonine et de 2 doses inconnues d'un même échantillon, administrées dans les mêmes proportions que les 2 doses étalon. L'effet étant proportionnel au logarithme de la dose, il est alors facile de déterminer la teneur de l'échantillon en calcitonine. Les divers dosages proposés sont tous analogues. Le fait d'utiliser des rats très jeunes (40 g) nourris pendant le jour précédant le dosage avec un régime pauvre en calcium semble augmenter la sensibilité de la méthode (KUMAR et col., 1965 ; COOPER et col., 1967 ; SCHLUETER et CALDWELL, 1967 ; COPP et KUCZERPA, 1968 ; STURTRIDGE et KUMAR, 1968a, 1968b).

Chez la Souris : cette espèce, également utilisé (LALJEE et col., 1967) ne semble pas réagir de la même façon que le rat. Ainsi elle paraît 5 fois plus sensible à l'action de la calcitonine aviaire et 10 fois moins sensible à l'action de la calcitonine porcine (PARSONS et REYNOLDS, 1968).

b) In vitro : la méthode mise au point par RAISZ (1965) pour le dosage de la parathormone a été utilisée pour celui de la calcitonine. Elle consiste à mesurer l'inhibition par la calcitonine de la libération du ⁴⁵Ca dans un milieu de culture par des os préalablement marqués (RAISZ et col., 1967).

3. Dosage radioimmunologique

Du fait de sa sensibilité, c'est celui qui tend à être le plus utilisé aujourd'hui.

Le premier dosage radioimmunologique de la calcitonine fut mis au point par DEFTOS et col. (1968) chez le Lapin à partir d'anticorps obtenus chez le Cobaye. A l'heure actuelle cette méthode de dosage commence à être utilisée dans plusieurs laboratoires (DEFTOS, LEE et POTTS, 1968 ; CLARK et col., 1969 ; TASHJIAN, 1969 ; LEQUIN, HACKENG et SCHOPMAN, 1969 ; ARNAUD, LITTLEDIKE et TSAO, 1970).

La validité des résultats obtenus par radioimmunologie dépend essentiellement de la spécificité des anticorps obtenus à l'égard de la séquence des acides aminés de la calcitonine d'une espèce déterminée : ainsi les anticorps anti-calcitonine porcine complexent la calcitonine bovine, mais seulement très faiblement la calcitonine ovine (LEQUIN, HACKENG, SCHOPMAN et CARE, 1969).

IV. PROPRIETES BIOCHIMIQUES

Les premières extractions du principe hypocalcémiant thyroïdien furent réalisées dans HCl 0,1 ou 0,2 N (FOSTER et col., 1963 ; HIRSCH, VOELKEL et MUNSON, 1964). Le relarguage des grosses protéines par ClNa et la filtration sur gel Séphadex permettaient d'obtenir des préparations peu purifiées (23 mU/mg de protéine) (BAGHDIAITZ et col., 1964). Une méthode utilisée pour la purification de la parathormone (RASMUSSEN et col. 1963) donnait des résultats analogues (TENENHOUSE et col., 1965).

La calcitonine porcine pure fut obtenue pour la première fois par POTTS et col. en 1967 ; POTTS et col., 1968). La détermination de la séquence d'acides aminés fut réalisée dans le même laboratoire : elle est constituée par 32 acides aminés et a un poids moléculaire de 3608 (POTTS et col., 1968). Elle peut se présenter sous 2 formes (α et β) qui diffèrent essentiellement par la position d'un pont disulfure (BELL et col., 1970 ; BARG et col., 1970).

De même la calcitonine humaine a pu être isolée sous forme pure à partir d'un cancer médullaire thyroïdien (NEHER et col., 1968). Elle peut exister, comme la calcitonine porcine, sous forme d'un monomère (M) (qui semble être la forme native) et d'un dimère. La synthèse de la calcitonine M a également été réalisée : elle est constituée par 32 acides aminés d'un poids moléculaire de 3419 (SIEBER et col., 1969).

La calcitonine bovine est elle aussi constituée par 32 acides aminés, selon une séquence très voisine de celle de la calcitonine humaine (BREWER et RONAN, 1969).

Le poids moléculaire de la calcitonine ultimobranchiale varierait légèrement selon les espèces, mais serait voisin de 4000 (O'DOR, PARKES et COPP, 1969a). Pour le Saumon, la séquence est de 32 acides aminés et le poids moléculaire de 3427 (O'DOR, PARKES et COPP, 1969b).

Les premières préparations de calcitonine, peu purifiées, étaient relativement stables (TASHJIAN et TWARDOCK, 1967). Avec les préparations purifiées, il se produit une adsorption de l'hormone au niveau des parois du récipient ; cet inconvénient peut être évité en dissolvant l'hormone dans une solution d'albumine à 0,1 % (PARSONS, 1968). Cependant alors que la nature de l'albumine n'intervient pas dans cette protection, seules l'ovalbumine et l'albumine porcine sont capables de retarder la dégradation de l'hormone purifiée qui survient à pH neutre (ALDRED et SCHLUETER, 1969).

Si les calcitonines porcines α et β ont la même activité biologique (270 U/mg de protéine) (BELL et col., 1970) la calcitonine humaine

M a (200 U/mg de protéine) une activité 8 fois supérieure à celle du dimère (25 U/mg de protéine) (GALANTE et col., 1970). L'activité biologique de la calcitonine bovine semble être de 200 U/mg de protéine (BREWER, SCHLUETER et ALDRED, 1970). Par contre l'activité biologique de la calcitonine du Saumon est, chez les Mammifères, beaucoup plus élevée que celle des calcitonines mammaliennes. Elle est de l'ordre de 5000 U/mg de protéine (O'DOR, PARKES et COPP, 1969b), et sa durée d'action est également beaucoup plus longue (COPP et col., 1970), probablement parce qu'elle est moins rapidement inactivée (DELUISE, MARTIN et MELICK, 1970b).

V. MODE D'ACTION

L'action hypocalcémiante de la calcitonine semble se manifester aussi bien au niveau du calcium total que du calcium ionisé (BERNSTEIN et col., 1969 ; RAMAN, 1971). L'hypocalcémie résulte de l'inhibition du catabolisme osseux (MILHAUD, PERAULT et MOUKHTAR, 1965). L'hypophosphatémie associée à l'hypocalcémie observée (HIRSCH, VOELKEL et MUNSON, 1964) correspond à une action au niveau de l'os et du rein (MILHAUD et col., 1966).

1. Action sur l'os

La néphrectomie ou l'ablation du tube digestif n'inhibant pas l'effet hypocalcémiant de l'hormone chez le Rat, l'os paraissait l'organe principal sur lequel devait agir la calcitonine (ALIAPOULIOS, SAVERY et MUNSON, 1965).

a) Au niveau du catabolisme osseux -

MILHAUD et ses collaborateurs furent les premiers à mettre en évidence l'inhibition du catabolisme osseux consécutive à l'injection de calcitonine chez le Rat (MILHAUD, PERAULT et MOUKHTAR, 1965). Depuis, ces résultats ont été confirmés par de nombreux travaux (MILHAUD et col., 1966 ; JOHNSTON et DEISS, 1966 ; HIRSCH, 1967 ; KLEIN, MORII et TALMAGE, 1967 ; O'RIORDAN et AURBACH, 1968 ; HINDBERG et SORENSEN, 1971).

La diminution de l'excrétion urinaire des radioisotopes (^{85}Sr et ^{45}Ca) fixés sur l'os, à la suite de l'administration de calcitonine, est une preuve supplémentaire de l'inhibition du catabolisme osseux par l'hormone (KOHLEH et PECHET, 1966 ; MAZUOLI et col., 1966 ; PECHET et col., 1967 ; WALLACH et col., 1967 ; AER, 1968).

L'excrétion urinaire d'hydroxyproline est un bon indicateur du métabolisme du collagène, et, indirectement du catabolisme osseux. Elle augmente après l'injection de parathormone (HARRIS et SJOERDSMA

1966). Or cette augmentation de l'excrétion urinaire d'hydroxyproline consécutive à l'administration de parathormone peut être supprimée par administration simultanée de calcitonine chez le Rat parathyroïdectomisé (PECHET, 1965). Chez le Rat normal l'excrétion urinaire d'hydroxyproline est significativement diminuée par injection de calcitonine (MARTIN, ROBINSON et MAC INTYRE, 1966 ; RASMUSSEN, ANAST et ARNAUD, 1967). Cette baisse de l'hydroxyprolinurie, associée à celle de l'hydroxyprolinémie (KLEIN et TALMAGE, 1968) est donc une preuve supplémentaire de l'inhibition du catabolisme osseux par la calcitonine.

Les expériences effectuées à l'aide de cultures de cellules osseuses in vitro ont aussi démontré une inhibition du catabolisme osseux par l'hormone (FRIEDMAN et RAISZ, 1965 ; ALIAPOLIOS, GOLDBERGER et MUNSON, 1966 ; FRIEDMAN, AU et RAISZ, 1968 ; REYNOLDS et DINGLE, 1968).

b) Au niveau de l'anabolisme osseux -

Si tous les auteurs sont actuellement d'accord pour admettre cette inhibition du catabolisme osseux par la calcitonine, certains ont également cru observer une augmentation de l'accrétion osseuse (WASE et col., 1966 ; 1967). Contrairement à ces résultats, d'autres travaux n'ont pas pu mettre en évidence une augmentation de la radioactivité spécifique dans l'os des rats traités à la calcitonine (CHAUSMER, WEISS et WALLACH, 1965). L'augmentation de volume des trabécules de l'os métaphysaire observée chez le Rat sous calcitonine paraît due uniquement à une inhibition de la résorption (FOSTER et col., 1966) et la calcitonine ne paraît nullement augmenter la masse osseuse du Rat en croissance (MILHAUD et col., 1969 ; BAYLINK, MOREY et RICH, 1969). Elle ne modifie pas non plus la synthèse de l'hydroxyproline osseuse dans des conditions normales, mais elle peut inhiber une stimulation de cette synthèse causée par la parathormone ou par un régime pauvre en calcium (KALU et FOSTER, 1971).

2. Action sur le rein

Si l'action hypocalcémisante de la calcitonine persiste chez l'animal néphrectomisé (ALIAPOLIOS, SAVERY et MUNSON, 1965), une hypercalciurie ne peut donc être la cause majeure de l'hypocalcémie induite. Néanmoins cela n'exclut pas une action au niveau rénal.

L'hyperphosphaturie induite par la calcitonine (KENNY et HEISKELL, 1965 ; MILHAUD et col., 1966), tout comme les effets de l'hormone sur l'excrétion rénale des autres ions, sont encore mal expliqués aujourd'hui.

PECHET et col. (1967) et ZIEGLER et PFEIFFER (1968) n'ont d'ailleurs pas observé d'hyperphosphaturie significative sous l'influence de calcitonine exogène ou endogène chez le Rat. Chez le Chien (PAK, RUSKIN et CASPER, 1970), comme chez le Porc (RUSSEL et FLEISCH (1968), la perfusion d'une dose de calcitonine (suffisante pour entraîner une hypocalcémie significative) dans l'artère rénale ne modifie pas de façon significative la phosphaturie.

L'hyperphosphaturie pourrait d'ailleurs être due à l'hypocalcémie induite, puisqu'elle s'observe après hypocalcémie induite par l'EGTA (RASMUSSEN, ANAST et ARNAUD, 1967).

Selon ROBINSON et col., (1966, 1967) l'hyperphosphaturie observée chez le rat sous calcitonine est due à une action directe de l'hormone au niveau du rein puisqu'on peut l'observer même chez l'animal parathyroïdectomisé ayant une calcémie très faible. Ainsi parathormone et calcitonine agiraient en antagonisme au niveau de l'os, mais en synergie au niveau du rein, leurs effets hypophosphatémiantes étant additifs, mais l'hyperphosphaturie est maximum sous parathormone ou sous calcitonine (MILHAUD et MOUKHTAR, 1966a, 1966b ; MILHAUD, LI TSIEN MING et MOUKHTAR, 1967).

Chez l'Homme, la calcitonine entraîne une augmentation de la calciurie, de la phosphaturie, de la chlorurie, de la natriurie, sans modification de l'excrétion rénale des ions H^+ (ARDAILLOU et col., 1967, 1968, 1969). L'hyperphosphaturie paraît due à une action directe de l'hormone au niveau du tube proximal (RICHEL et col., 1968).

Ces résultats discordants pourraient s'expliquer soit par différences selon les espèces, soit par des impuretés contenues dans des préparations hormonales. En effet, chez le Rat, l'hyperphosphaturie a été obtenue récemment avec de la calcitonine porcine purifiée (ALDRED et col., 1970) ou synthétique (NIELSEN et col., 1970) et même de la calcitonine purifiée d'origine ultimobranchiale (ALDRED, KLESZYNSKI et BASTIAN, 1970).

Enfin un traitement prolongé à la calcitonine chez le Rat (pendant 32 j) induit la formation d'un dépôt calcifié au niveau des tubules rénaux qui n'apparaît pas chez le rat carencé en magnésium (FARNELL et WHITEHAIR, 1971).

3. Action sur l'absorption calcique intestinale

Puisque l'ablation du tractus digestif ne supprime pas l'effet hypocalcémiant de la calcitonine chez le Rat, (ALIAPOULIOS, SAVERY et

MUNSON, 1965), l'action de l'hormone sur l'absorption calcique intestinale doit être très faible.

En effet sur l'anse intestinale isolée du Rat (ROBINSON, MATTHEWS, MAC INTYRE, 1967) et sur l'anse de Thiry-Vella de Chien (KRAINTZ et KRAMER, 1960), la calcitonine ne paraît avoir aucun effet sur l'absorption du calcium. La stimulation de l'absorption calcique consécutive à l'administration de calcitonine chez le Rat normal paraît liée à une réaction parathyroïdienne secondaire à l'hypocalcémie induite, puisqu'elle n'apparaît pas chez le Rat parathyroïdectomisé (MILHAUD et col., 1966).

Cependant des résultats différents ont été récemment rapportés. Chez le Mouton, une administration prolongée de calcitonine paraît capable de réduire l'absorption calcique intestinale (CARE, 1970). Contrairement à cela, la calcitonine semble stimuler le transfert calcique sur l'anse intestinale éversée de jeunes rats parathyroïdectomisés (GRUSON et col., 1970) et in vivo, chez l'Homme, l'absorption intestinale du ^{32}P (CANIGGIA et col., 1968).

A l'heure actuelle, il est donc encore impossible d'affirmer le rôle de l'hormone sur l'absorption intestinale des minéraux.

VI - MECANISME D'ACTION DE L'HORMONE AU NIVEAU CELLULAIRE

Bien que l'on sache depuis plusieurs années que la calcitonine est capable de bloquer l'incorporation d'uridine tritiée dans les cellules osseuses, stimulées par la parathormone (RAISZ et NIEMAN, 1967) son action au niveau cellulaire est encore très mal connue.

Elle ne semble pas faire intervenir la formation d'ARN, puisqu'elle n'est pas bloquée par l'Actinomycine (ANAST et col., 1967 ; GUDMUNDSSON et col., 1966 ; TASHJIAN, 1965).

On pouvait également penser que comme pour de nombreuses autres hormones, l'action de la calcitonine s'exerçait au niveau cellulaire par l'intermédiaire du "second messenger hormonal", l'AMP cyclique (SUTHERLAND, ØYE et BUTCHER, 1965). En effet la théophylline et l'isoprotérénol inhibent l'action hypocalcémiante de l'hormone purifiée chez le Rat, et l'AMP cyclique possède un effet hypercalcémiant chez cet animal (WELLS et LLOYD, 1968, 1969). WELLS et LLOYD en avaient déduit que la calcitonine pourrait agir en stimulant une phosphodiesterase cellulaire qui dégraderait l'AMP cyclique inhibant ainsi la libération du calcium par les enzymes des cellules osseuses.

En réalité, en utilisant de la calcitonine synthétique on s'est aperçu que la théophylline n'inhibait pas l'hypocalcémie induite

par la calcitonine (MAC INTYRE, 1970).

De plus, bien que la calcitonine paraisse capable de bloquer les mitoses induites par la parathormone ou l'AMP cyclique dans des cultures de thymocytes de rat (MAC MANUS et WHITFIELD, 1970), elles ne ralentit pas la synthèse d'adényl cyclase dans les cellules osseuses in vitro (CHASE, FEDAK et AURBACH, 1969) et semble même stimuler la formation d'AMP cyclique dans ces mêmes cellules (MURAD, BREWER et VAUGHAN, 1970).

Selon des hypothèses récentes (MAC INTYRE, 1970), la calcitonine pourrait agir au niveau de la pompe à calcium cellulaire. En effet, sur des cultures de cellules rénales, elle bloque les sorties calciques extracellulaires, augmentant aussi la concentration calcique intracellulaire (BORLE, 1969). Ce blocage pourrait s'effectuer au niveau de l'ATPase de la pompe à calcium de la paroi cellulaire (PARKINSON et RADDE, 1970).

VII. REGULATION DE LA SECRETION DE CALCITONINE

Dès 1961 COPP avait comparé la régulation de la calcémie par la parathormone et la calcitonine à celle de la glycémie par l'insuline et le glucagon. Une hypocalcémie stimule la sécrétion de parathormone et une hypercalcémie celle de la calcitonine.

1) Rôle de la calcémie

On sait aujourd'hui qu'une hypercalcémie stimule effectivement la sécrétion de calcitonine. Ceci a été démontré chez la Chèvre (FOSTER et col., 1964); le Chien (BERNSTEIN, KLEEMAN et PINE, 1965), le Porc (CARE, 1965), le Mouton (CARE, COOPER, DUNCAN et ORIMO, 1968), le Lapin (LEE, DEFTOS et POTTS, 1969). Une preuve indirecte en a été fournie chez le Rat, du fait que l'hypercalcémie diminue la teneur de la thyroïde en calcitonine, contrairement à l'hypocalcémie qui l'augmente (GITTES, TOVERUD et COOPER, 1968). La thyroïde semble répondre activement et intensément à toute élévation de la calcémie, comme l'a montré le dosage radioimmunologique de la calcitonine chez le Porc (COOPER, DEFTOS et POTTS, 1971).

Chez l'Oiseau l'activité sécrétoire des cellules du corps ultimobranchial est également réglée par la calcémie (CHAN, CIPERA et BELANGER, 1969 ; BATES, BRUCE et CARE, 1969 ; MUELLER, ANAST et BREITENBACH, 1970 ; BOELKINS et KENNY, 1970).

2) Relations entre les cellules C et les autres glandes endocrines

a) Hypophyse : les cellules C ne sont pas sous la dépendance de l'hypophyse, puisque chez le Rat, l'hypophysectomie ne modifie ni l'aspect histologique des cellules C, ni la teneur de la glande en calcitonine (MILHAUD et MOUKHTAR, 1965). Chez le Porc l'hypophysectomie ne modifie pas non plus le taux de sécrétion de l'hormone lors d'hypercalcémies expérimentales (CARE et col., 1969).

b) Thyroïde : la thyroxine, hyperphosphatémiant chez le rat, potentialise l'action hypocalcémiant de la calcitonine (MILHAUD, LI TSIEN MING et MOUKHTAR, 1967), probablement en stimulant le turn-over osseux (GITTES et IRVIN, 1966 ; COLLIGNON, et col., 1970). Ceci suffit à expliquer qu'une carence en iode chez le Rat (MORII et TALMAGE, 1966) paraisse freiner la sécrétion de l'hormone chez cet animal rendu hypercalcémique par injection calcique intraveineuse. De plus l'hypothyroïdie augmente légèrement la teneur spécifique de la thyroïde en calcitonine chez ce rongeur (ALIAPOULIOS et MUNSON, 1965 ; YASUMURA et col., 1967) et chez le Porc (CARE, DUNCAN et WEBSTER, 1966). La TSH ne stimule pas la sécrétion de calcitonine chez ce dernier (CARE, BATES et GITELMAN, 1970).

c) Parathyroïdes : si la sécrétion de calcitonine ne paraît pas influencée par le taux sanguin de parathormone (CARE, BATES et GITELMAN, 1970) par contre chez l'Homme atteint d'hyperparathyroïdisme, la teneur en calcitonine de la thyroïde est significativement diminuée, probablement par suite d'une sécrétion accrue consécutive à l'hypercalcémie provoqué par l'excès de parathormone (TASHJIAN et VOELKEL, 1967).

d) Surrénales : chez le Rat normal ou surrénalectomisé, traité à la cortisone (5 mg/j pendant 7 j), la teneur de la thyroïde en calcitonine est multipliée par 6 (DE GIUSEPPE et RINDI, 1969). La raison de ce phénomène n'est pas expliqué. Cependant la cortisone inhibe l'effet hypocalcémiant de la calcitonine (THOMPSON et col., 1968), probablement en ralentissant le catabolisme osseux (TALMAGE, PARK et JEE, 1970 ; TALMAGE et KENNEDY, 1970).

e) Épiphyse : l'épiphysectomie chez le Rat, paraît stimuler les cellules C (SCEPOVIC, 1963 ; MILINE et col., 1967). Cette stimulation pourrait résulter de l'hyperparathyroïdisme (MILINE et KRSTIC, 1966) ou de l'augmentation du catabolisme osseux (MENIGOT, GAILLARD et THIEBLOT, 1970) observés après épiphysectomie.

VIII. METABOLISME

La calcitonine est présente dans le plasma de l'animal normal même en l'absence d'hypercalcémie (KLEIN et TALMAGE, 1965 ; LEE, DEFTOS et POTTS, 1969) il en est d'ailleurs de même chez l'Homme (STURTRIDGE et KUMAR, 1968 ; GUDMUNDSSON et col., 1969).

Chez le Porc une fraction de l'hormone plasmatique est sous forme libre, l'autre partie est liée à une protéine (LEGGATE, CARE et FRAZER, 1969). La disparition de l'hormone au sein du plasma est rapide: chez le Porc, sa demi-vie serait de l'ordre de 35 à 40 mn (WEST, O'RIORDAN et CARE, 1969). Chez l'Homme le taux de clearance métabolique de l'hormone serait de $82,3 \pm 3,4 \text{ ml/mn/m}^2$, et le rein jouerait un rôle très important dans le catabolisme de l'hormone (ARDAILLOU et col., 1970), d'ailleurs ainsi que le foie (DELUISE, MARTIN et MELICK, 1970a) aussi bien chez l'animal adulte que chez le fœtus (GAREL et DUMONT, 1971).

Le plasma renferme en effet une thyrocalcitoninase active (TASHJIAN, et MUNSON, 1965) , qui pourrait provenir du foie, du rein, de la rate et du muscle puisque, chez le Rat, ces organes inactivent la calcitonine (MILHAUD et HANKISS, 1969). Cette inactivation est d'ailleurs plus intense avec des organes adultes qu'avec ceux provenant d'embryons (GAREL, MILHAUD et SIZONENKO, 1970).

Chez l'Homme, dans les cas de cancer médullaire à stroma amyloïde de la thyroïde (cancer des cellules C), où des taux élevés de calcitonine se rencontrent dans le plasma (MILHAUD et col., 1968), l'urine des patients possède une activité hypocalcémiante intense due à la calcitonine (TASHJIAN et MELVIN, 1968 ; VOELKEL et TASHJIAN, 1971).

Si les effets de la calcitonine ont été très étudiés chez le Rat, et en médecine, chez l'Homme, il n'en est pas de même chez les Bovins. Aussi il nous a paru bon d'étudier les effets de l'hormone chez les Ruminants (Vache et Brebis). Une telle expérimentation n'avait pas été réalisée jusqu'à présent en raison du poids des animaux qui nécessite des quantités très importantes de calcitonine. Dès qu'il nous fut possible d'obtenir les quantités d'hormone suffisantes, nos recherches ont essayé d'apporter des observations sur les principaux points suivants :

- Effets de la calcitonine chez les Bovins et induction expérimentale d'un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire par perfusion de calcitonine à la Vache.

- Sécrétion de calcitonine chez le Ruminant. Mise en évidence de

taux élevés de calcitonine plasmatique chez les animaux présentant le syndrome vitulaire. Etude de l'influence de divers facteurs sur la sécrétion de calcitonine chez la Vache et la Brebis.

L'étude de ces différents problèmes et la comparaison de nos résultats avec ceux des auteurs qui ont travaillé chez d'autres espèces animales devrait contribuer à éclairer le rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phospho-calcique du Ruminant, et en particulier, dans le syndrome vitulaire de la Vache.

0

0

0

TECHNIQUES GENERALES

Nous résumerons brièvement les techniques générales (animaux - techniques opératoires - injections hormonales - préparation et dosage biologique de la calcitonine - calculs statistiques) utilisés au cours de notre expérimentation. Les techniques particulières et le protocole expérimental de chaque groupe de recherches seront décrits au début des chapitres correspondants.

A - ANIMAUX ET CONDITIONS D'ELEVAGE

I. Rats

Le dosage biologique de la calcitonine plasmatique ou intra-thyroïdienne nécessitait l'utilisation de rats. Ces expériences ont été réalisées sur des rats albinos de souche Sherman provenant de la station de Physiopathologie de la Nutrition. Les animaux traités et témoins sont élevés ensemble dans les mêmes conditions de température (23°C) et d'éclairage. Ils reçoivent un aliment complet et de l'eau, donnés ad libitum.

II. Ovins et bovins

Les moutons utilisés dans notre expérimentation sont de race Limousine ou Ravat. Les bovins sont des animaux de race Jersiaise. Comme les moutons, ils proviennent du troupeau de la station de Physiopathologie de la Nutrition. Tous ces animaux reçoivent une alimentation constituée par un fourrage, vert ou sec selon la saison, distribué ad libitum, et un aliment complémentaire (75,5 % de céréales, 20 % de tourteau, 2 % de PO_4 HCa, 1 % de CO_3 Ca, 1,5 % de Na Cl) pour brebis (400 g/j) ou vaches laitières (75 % de céréales, 21 % de tourteau, 2 % CO_3 Ca, 1,5 % PO_4 HCa, 0,5 % Cl Na) (1500 g/j). L'eau est distribuée par abreuvoirs automatiques. Lorsque les animaux sont mis à jeun, la paille de la litière est remplacée par de la sciure de bois.

B - TECHNIQUES OPERATOIRES

I. Prélèvements de sang

Sur les rats les prélèvements de sang sont effectués par ponction cardiaque après légère anesthésie à l'éther.

Sur les Ovins et les Bovins les prélèvements de sang sont effectués par ponction d'une jugulaire externe. Le sang, recueilli sur héparine, est immédiatement centrifugé à 3000 g pendant 10 mn. Le plasma est recueilli par pipetage et congelé à -20°C jusqu'au moment des dosages. Lorsque les prélèvements sont destinés à un dosage hormonal le sang est recueilli sur héparine dans des tubes réfrigérés par un bain de glace fondante. Il est ensuite centrifugé à $+2^{\circ}\text{C}$, et le plasma est recueilli par pipetage dans une enceinte à $+4^{\circ}\text{C}$ avant d'être congelé.

II. Perfusions endoveineuses

Les perfusions effectuées durant plusieurs heures sur les Ovins et les Bovins sont réalisées à l'aide d'une pompe à débit constant préalablement réglée, reliée à l'animal par un cathéter inséré dans une jugulaire externe. Les prélèvements de sang sont alors effectués à l'aide d'un autre cathéter inséré dans la jugulaire contralatérale. Ceci permet de ne pas trop perturber l'animal et évite une dilution du prélèvement par le perfusat.

III. Thyroidectomies

Les Brebis (à jeun depuis 24 h) et les Vaches (à jeun depuis 36 h) sont anesthésiées par injection intraveineuse de pentothal. L'anesthésie est maintenue, après intubation trachéale, par un mélange approprié d'oxygène et d'halothane (FISHER et JENNINGS, 1957, 1958). Toutes les thyroidectomies sont effectuées par ablation chirurgicale et vérifiées au moment de l'abattage de l'animal. Chez la Brebis comme chez la Vache, la thyroidectomie entraîne obligatoirement une parathyroidectomie partielle, les parathyroïdes inférieures étant incluses dans le parenchyme thyroïdien. Cette parathyroidectomie partielle n'a pas d'effet visible sur la calcémie de l'animal. Ceci est probablement dû au fait que, chez la Vache, les parathyroïdes inférieures représentent moins de 12 % du poids total des parathyroïdes (MAYER, RAMBERG et KRONFELD, 1966a).

C - PREPARATION DE LA CALCITONINE

Nous avons utilisé la technique mise au point par GUDMUNDSSON, MAC INTYRE et SOLIMAN (1966).

Les thyroïdes (de Porc ou de Boeuf) nous sont fournies par

l'abattoir industriel de Villefranche d'Allier. Les glandes sont prélevées immédiatement après l'abattage et congelées dans l'acétone à -20°C . Elles sont ensuite dégraissées par 2 lavages successifs dans l'acétone à $+4^{\circ}\text{C}$. Après filtration sur gaze, la poudre obtenue est séchée 12 h à la température du laboratoire et stockée à -20°C . 500 ml d'HCl 0.2 N, à 70°C , sont ajoutés à 50 g de cette poudre, et le mélange est agité pendant 1 h à la température ambiante, puis filtré sur gaze. Le dépôt de filtration est rincé avec 500 ml d'eau distillée qui sont ajoutés au précédent filtrat. La solution ainsi obtenue est mise en dialyse dans un boyau à dialyse (VISKING - 24/32) pendant 24 h à $+4^{\circ}\text{C}$ dans un tampon acétate de soude à $\text{pH} = 4.6$. L'hormone ne diffusant pas dans le tampon, une solution de NaCl est alors ajoutée au contenu du boyau de façon à obtenir une concentration finale en NaCl molaire. Après 48 à 72 h à $+4^{\circ}\text{C}$, le précipité obtenu, constitué par des protéines inactives, est enlevé par centrifugation à 5000 g à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant 1 h. Le surnageant est additionné de NaCl de façon à obtenir une concentration bimolaire. Après 48 h à $+4^{\circ}\text{C}$ on obtient un léger précipité dans lequel se trouve l'hormone. Ce précipité est recueilli par centrifugation à $+4^{\circ}\text{C}$, à 1000 g, pendant 1 h.

L'activité hypocalcémiante du précipité ainsi obtenu variait, selon les préparations, entre 400 et 6000 mU M.R.C./mg de protéine. Elle serait de l'ordre de 1000 mU M.R.C./mg de protéine selon GUDMUNDSSON, MAC INTYRE et SOLIMAN (1964). Le précipité ainsi obtenu était soit lyophilisé et conservé à -20°C , soit dissout dans un tampon acétate de soude à $\text{pH} = 4.6$ pour une utilisation immédiate. Nous avons ainsi pu isoler les quantités d'hormone porcine ou bovine nécessaires à nos premières expérimentations. Depuis le début de 1968, les laboratoires ARMOUR (Kankakee - Illinois - U.S.A.) nous fournissent gracieusement une calcitonine porcine dont le degré de purification varie entre 30 et 65 U M.R.C./mg de protéine, selon les lots. La méthode d'extraction et de purification utilisée n'a pas été divulguée.

La méthode d'extraction que nous utilisons est longue (les équipements du laboratoire ne permettent pas de traiter convenablement des quantités de liquide supérieures à 5 l) et conduit à des pertes d'hormone de l'ordre de 80 %. Aussi pour tester les quantités de calcitonine contenues dans une thyroïde, nous broyons la glande (ou un fragment de poids connu de celle-ci) dans HCl 0,1 N, dans un broyeur en verre, de type Potter, à $+4^{\circ}\text{C}$. L'extrait brut ainsi obtenu peut être administré aux rats pour un dosage biologique (HIRSCH, VOELKEL, et MUNSON, 1964).

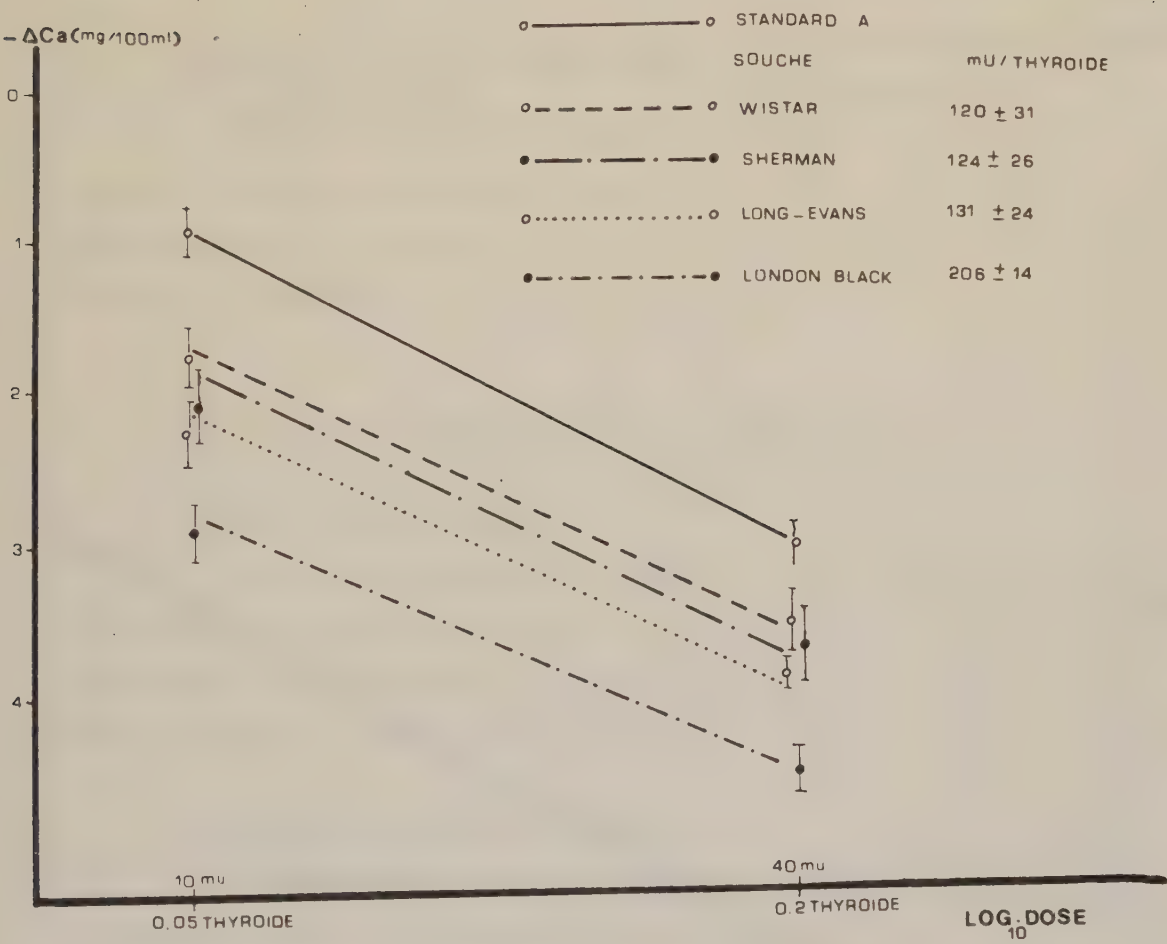
D - DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA CALCITONINE

Pour doser la calcitonine nous avons utilisé la méthode mise au point par KUMAR et col. (1965) et améliorée par MILHAUD et col. (1968), utilisant des rats mâles (Sherman) de 50 g à jeun depuis 16 h. Les animaux (5 ou 6 par groupe) sont injectés par une veine saphène (préalablement dénudée). 1 h plus tard le sang est prélevé par ponction intracardiaque sous légère anesthésie à l'éther. Il est immédiatement centrifugé et le plasma est recueilli pour le dosage du calcium. La figure 1 montre un exemple illustrant ce type de dosage. Nous avons testé la validité de cette méthode de dosage en comparant nos résultats sur extraits thyroïdiens et plasmas avec ceux obtenus par A.D. CARE (Rowett Research Institute) sur les mêmes échantillons.

Pour les 6 extraits thyroïdiens que nous avons comparés, les valeurs obtenues par A.D. CARE étaient absolument identiques aux nôtres. Par contre sur 4 plasmas nos valeurs étaient, pour une raison inexplicable, régulièrement environ 50 fois supérieures aux siennes. Nous avons alors comparé les résultats de notre dosage avec ceux obtenus par R.M. LEQUIN et W.H.L. HACKENG (ROTTERDAM) par radioimmunologie, sur 14 plasmas, provenant d'échantillons de sang récoltés à une veine thyroïdienne, sur un bovin. La figure 2 montre qu'il existe une corrélation positive hautement significative ($r = + 0,894$, pour 12 D.L., pour $P \leq 0,01$, $r = 0,661$) entre nos résultats et ceux obtenus par radioimmunologie. Mais, comme l'indique la figure 2, nos valeurs sont 95 fois supérieures à celles obtenues par radioimmunologie. En effet 1 pg de calcitonine équivaut à environ $0,2 \mu$ U de calcitonine (BREWER et RONAN, 1969) et selon notre dosage 1 pg équivaldrait à 19μ U. Les comparaisons ainsi effectuées nous montrent que nous évaluons avec une précision satisfaisante la teneur en calcitonine des extraits thyroïdiens. Par contre, en ce qui concerne la calcitoninémie, notre dosage biologique peut seulement mettre en évidence ses variations, sans nous permettre de mesurer exactement sa valeur.

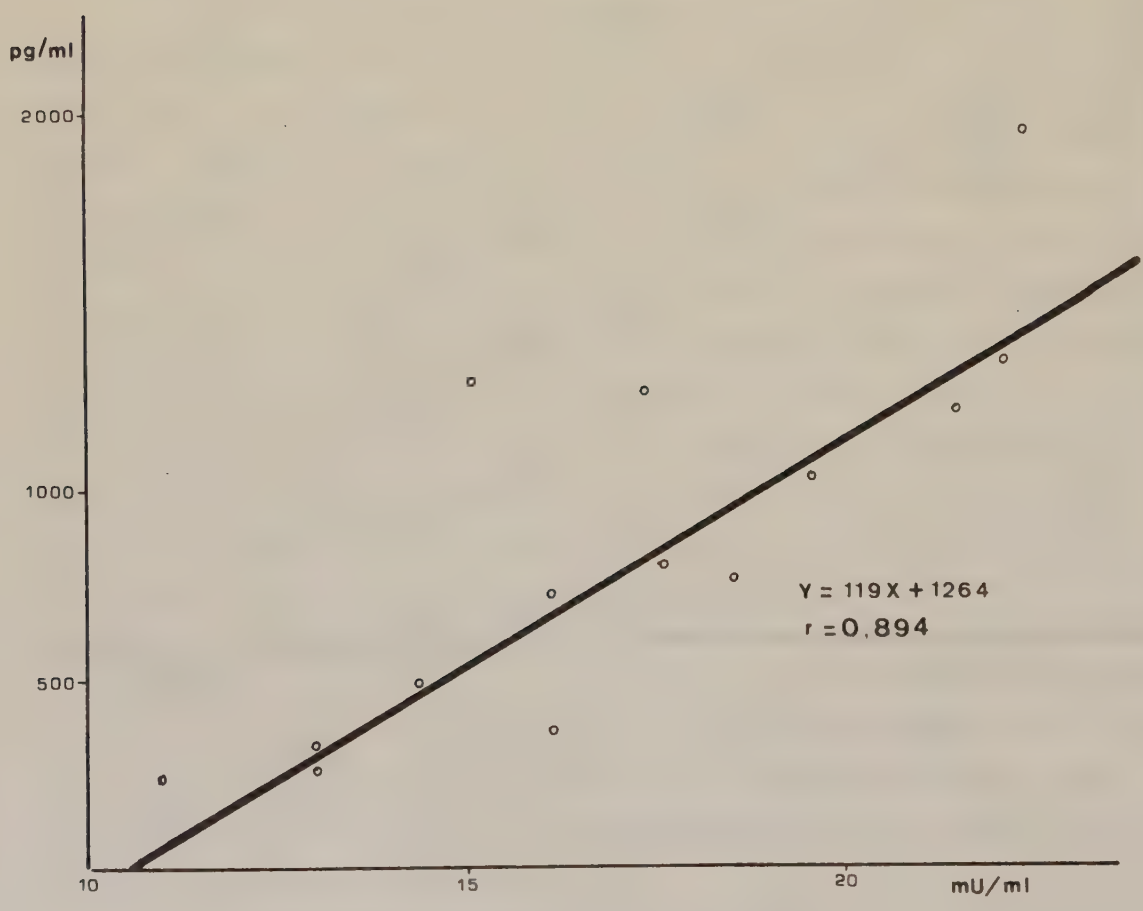
Les raisons pour lesquelles nous avons obtenu des valeurs de la calcitoninémie supérieures à celles des autres auteurs sont très difficiles à expliquer, d'autant plus que nos résultats concernant les taux de calcitonine intrathyroïdienne sont analogues aux leurs. Il faut toutefois signaler que la calcitonine plasmatique bovine apparaît extrêmement labile (DEFTOS L.J., Communication personnelle) : tous nos dosages sur plasmas ont été effectués sur des échantillons recueillis dans les 48 heures précédentes, et conservés à -20°C . Il n'est pas impossi-

FIGURE 1 : DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA
THYROIDE DE RATS DE DIFFERENTES SOUCHES.



INDICE DE PRECISION DU DOSAGE $k = 0.17$

FIGURE 2 : CORRELATION ENTRE LE DOSAGE BIOLOGIQUE (mU/ml) ET LE DOSAGE
RADIOIMMUNOLOGIQUE (pg/ml) DE LA CALCITONINE PLASMATIQUE.



qu'une conservation de longue durée, même à -20°C , puisse conduire à l'inactivation d'une grande partie de la calcitonine. En effet l'activité hypocalcémiante de l'urine des patients atteints de cancer médullaire à stroma amyloïde de la thyroïde disparaît en grande partie lorsque cette urine est congelée plus de 14 jours à -20°C (VOELKEL et TASHJIAN, 1971). De plus la différence de nos résultats avec ceux du dosage radioimmunologique pourrait être expliquée, au moins partiellement, par l'existence éventuelle d'un précurseur de la calcitonine, doté d'activité biologique, mais n'ayant pas les mêmes propriétés immunologiques que l'hormone.

Ainsi seul un dosage radioimmunologique, effectué avec un anticorps spécifique de la calcitonine bovine, et sur des plasmas venant d'être recueillis, permettra d'évaluer avec précision la calcitoninémie chez les Bovins.

E - DOSAGES DES MINERAUX ET DU GLUCOSE PLASMATIQUES

I. Calcium et magnésium

Calcium et magnésium plasmatiques sont dosés par photométrie d'absorption atomique à l'aide d'un appareil PERKIN-ELMER 303. (DAWSON et HEATON, 1961). Les erreurs de reproductibilité de la méthode ne dépassent pas 2 % pour le magnésium et 3 % pour le calcium.

II. Phosphore minéral et glucose

Après précipitation des protéines plasmatiques par l'acide trichloracétique, phosphore minéral et glucose plasmatiques sont mesurés par colorimétrie à l'auto-analyseur TECHNICON. Le phosphore minéral est dosé selon une méthode dérivée de celle de KALCKAR (1947), mise au point au laboratoire (MICHEL, 1971). Le phosphore minéral réagit avec du molybdate de sodium en milieu acide pour donner un phosphomolybdate incolore. Celui-ci, réduit par l'acide ascorbique, prend une coloration bleu-noire dont on mesure l'intensité à 700 nm. Le glucose est dosé selon une méthode à la glucose-oxydase mise au point au laboratoire (MICHEL, 1971). L'oxydation du glucose par la glucose-oxydase produit H_2O_2 . Celle-ci, dégradée par une peroxydase fournit de l'oxygène qui oxyde le ferrocyanure de potassium qui prend une coloration jaune dont on mesure l'intensité à 410 nm. Les erreurs de reproductibilité pour les dosages de phosphore minéral et du glucose plasmatiques ne dépassent pas 1 % sur un échantillon (MICHEL, 1971).

F - PRESENTATION DES RESULTATS ET CALCULS STATISTIQUES

Les résultats numériques sont présentés sous forme de moyennes, accompagnées d'un indice de dispersion qui est l'écart-type à la moyenne ($\frac{\sigma}{\sqrt{N}}$). Sur les graphiques celui-ci est représenté par un trait vertical au niveau de chaque point. Pour évaluer la signification des différences éventuellement observées entre les valeurs moyennes de deux séries expérimentales, nous avons utilisé le test de la variable "t" de STUDENT. Les calculs des droites de régression et des tests de corrélation ont été effectués selon SNEDECOR et COCHRAN, 1967).

RESULTATS

L'ensemble de ce travail a donné lieu à des publications préliminaires : BARLET (1967, 1968a, 1968b, 1968c, 1969a, 1969b, 1969c, 1970a, 1970b, 1971) ; BARLET, COPP et ROBINSON (1971) ; BARLET, MICHEL, LARVOR et THERIEZ (1971) ; CALAMY et BARLET (1970) ; CARE, BATES, PHILIPPO, LEQUIN, HACKENG, BARLET et LARVOR (1970) ; LARVOR et BARLET, (1968).

PREMIERE PARTIE

VARIATIONS DE LA CALCEMIE, DE LA PHOSPHATEMIE, DE LA MAGNESEMIE ET DE LA GLYCEMIE CHEZ LES RUMINANTS A LA PARTURITION.

La pauvreté des données concernant les variations simultanées de la calcémie, du taux plasmatique de calcium ultra-filtrable, de la magnésémie, de la glycémie au moment de la parturition, chez des vaches de race et d'âge différents et chez la Chèvre et la Brebis, nous a conduit à effectuer ces observations du moment de la mise bas chez ces 3 espèces.

A - MATERIEL ET METHODES

Les échantillons de plasmas utilisés pour ce travail proviennent en grande partie, pour les Bovins et les Ovins, d'animaux de la station de l'Elevage du C.R.Z.V. de Theix. Les Chèvres appartiennent à la station de Recherches sur les Métabolismes. 60 % des plasmas provenant de vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire et des veaux de certaines nous ont été fournis par un vétérinaire du département des Pyrénées Atlantiques. Les autres plasmas de vaches hypocalcémiques ont été recueillis sur des animaux du C.R.Z.V. de Theix.

6 vaches Jersiaises atteintes d'hypocalcémie vitulaire, ont été utilisées pour comparer les effets sur la calcémie de ces animaux de l'injection calciqye et de l'insufflation mammaire. 3 vaches ont donc été traitées, au moment des symptômes, par injection de 500 ml d'une solution de glutamate (7,5 g de Ca/l) (NEVROGLUTAMAT - VETOQUINOL). Les 3 autres ont eu, au même moment, les 4 mamelles insufflées d'air à l'aide de l'appareil d'EVERS (après administration préalable de pénicilline dans les trayons pour éviter une infection). La pression d'insufflation (de l'ordre de 50 mm d'eau) est grossièrement indiquée par la distension d'un ballonnet adapté à l'appareil. Pour éviter la baisse de pression intramammaire, chaque trayon est clampé à son extrémité pendant le temps où l'insufflation est maintenue (2 h).

Le calcium ultra-filtrable plasmatique est déterminé par filtration du plasma à travers une membrane "U.M. 20E DIAFLO" qui arrête les molécules d'un poids supérieur à 20 000 (BLATT, ROBINSON et BLXLER, 1968 ; FARESE, MAGER et BLATT, 1970). Le calcium du filtrat est ensuite mesuré comme le calcium plasmatique total.

B - RESULTATS

I. Chez les vaches en lactation

TABLEAU 1

CALCEMIE, PHOSPHATEMIE, MAGNESIEMIE ET GLYCEMIE DE LA VACHE LAITIERE

Race	Ca (mg/100ml)	P minéral (mg/100 ml)	Mg (mg/100 ml)	Glucose (g/l)
JERSIAISE (11)	9,62 ± 0,29	4,80 ± 0,41	2,01 ± 0,21	0,62 ± 0,09
HOLSTEIN (5)	9,60 ± 0,25	4,60 ± 0,49	2,08 ± 0,18	0,57 ± 0,03
FRISONNE (17)	9,81 ± 0,23	5,08 ± 0,38	1,94 ± 0,12	0,58 ± 0,10
PIE-ROUGE (9)	10,01 ± 0,31	5,12 ± 0,27	1,96 ± 0,22	0,71 ± 0,18
SALERS (8)	9,74 ± 0,28	4,66 ± 0,43	1,89 ± 0,6	0,66 ± 0,02
AUBRAC (7)	9,84 ± 0,19	5,09 ± 0,34	1,93 ± 0,10	0,70 ± 0,11
CHAROLAISE (6)	10,10 ± 0,33	5,31 ± 0,48	2,00 ± 0,08	0,62 ± 0,10

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux utilisés.

Comme le montre le tableau 1, chez la vache en lactation la calcémie est voisine de 10 mg/100 ml, la phosphatémie de 5 mg/100 ml, la magnésiémie de 2 mg/100 ml et la glycémie de 0,65 g/l. Il n'existe pas de différence significative entre les races en ce qui concerne ces 4 paramètres.

II. Chez les vaches parturientes normales

Comme l'indique le tableau 2, on observe une hypocalcémie ($-\Delta \text{Ca}$), une hypophosphatémie ($-\Delta \text{P}$), une hypermagnésiémie (ΔMg) et une hyperglycémie (ΔG). ΔCa et ΔP sont significativement plus accentués chez les races laitières (Jersiaise, Frisonne) que chez les races à viandes (Charolaise) ou les races mixtes (Salers), quel que soit le nombre de vêlages de l'animal.

Chez 4 races observées, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie associées à la parturition s'accroissent significativement jusqu'au 3ème vêlage. Au delà de celui-ci, on n'observe pas d'aggravation significative de l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie (tableau 2).

La race et le nombre de vêlages n'ont pas d'influence significative sur l'hyperglycémie. En ce qui concerne l'hypermagnésiémie, elle est significativement plus accentuée chez les animaux Jersiais que chez les animaux Charolais, mais il n'existe pas de différence significative entre les Frisons et les Salers (tableau 2).

Chez 22 vaches (13 Frisones et 9 Jersiaises), au 3ème ou 4ème vêlage, nous avons trouvé une corrélation positive hautement significative entre la calcémie et la phosphatémie 24 h avant la parturition (pour 20 D.L., $r = + 0,764$, pour $P \leq 0,01$, $r = 0,537$), au moment de celle-ci ($r = + 0,764$) et 24 h plus tard ($r = + 0,698$). Chez ces mêmes animaux il existe aussi une corrélation négative significative entre la calcémie et la magnésiémie au moment de la parturition (pour 20 D.L., $r = 0,516$, pour $P \leq 0,05$, $r = - 0,216$) ou 24 h plus tard ($r = - 0,439$). Au moment de la parturition il existe aussi une corrélation négative hautement significative entre la calcémie et la glycémie (pour 20 D.L., $r = - 0,621$), qui n'apparaît pas non plus 24 h plus tôt ($r = - 0,339$) ou 24 h plus tard ($r = - 0,287$).

Les variations du taux de calcium ultrafiltrable sont parallèles à celles du calcium plasmatique total dans les heures précédant et suivant la parturition (figure 3).

III. Chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire

L'hypocalcémie, l'hypophosphatémie et l'hypermagnésiémie sont

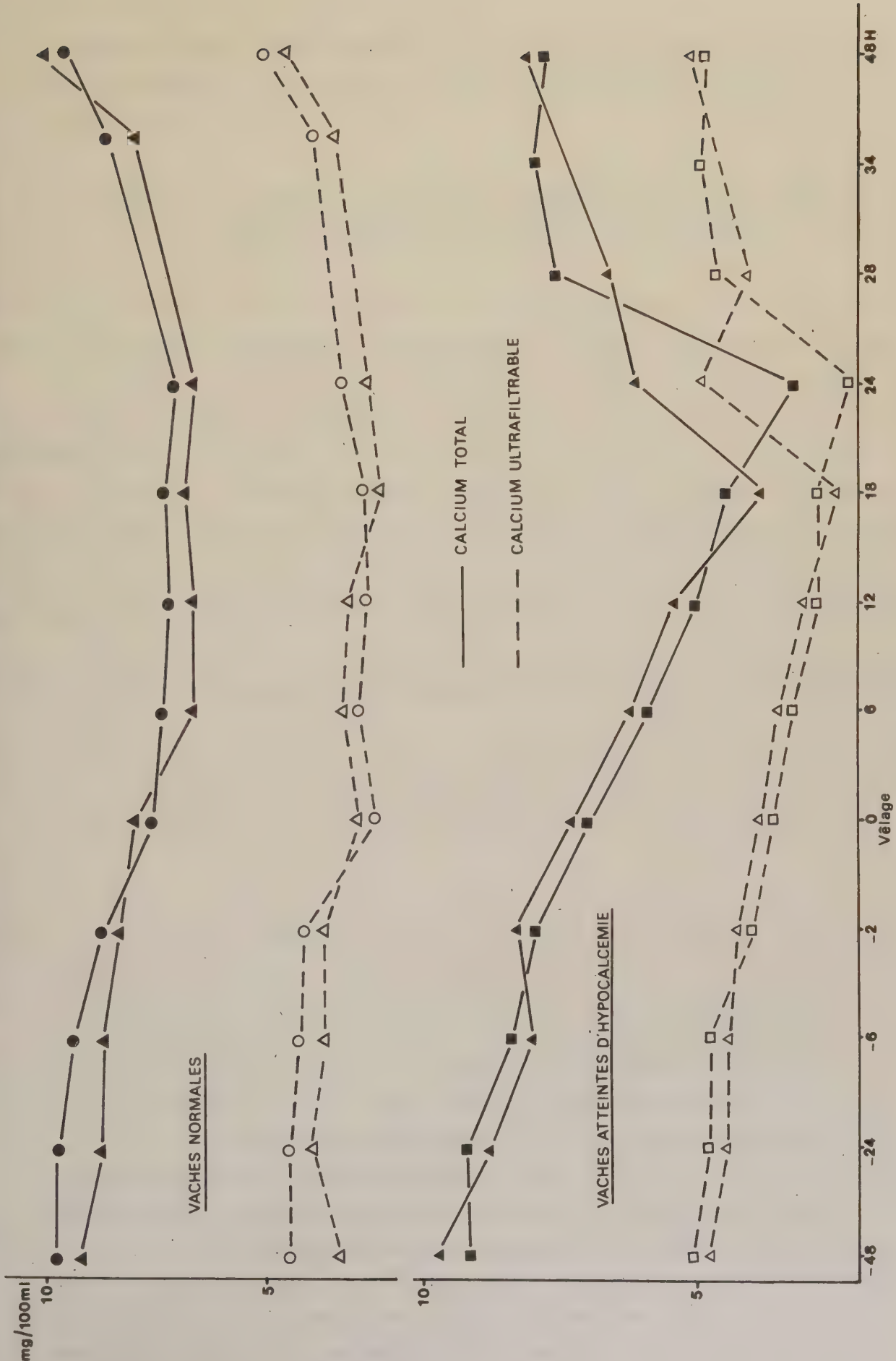
DE LA MAGNÉSIE ET DE LA GLYCÉE A LA PARTURITION

Velage	JERSIAISES						FRISONNES						SALERS						CHAROLAISES					
	Δ Ca	Δ P	Δ Mg	Δ G	Δ Ca	Δ P	Δ Mg	Δ G	Δ Ca	Δ P	Δ Mg	Δ G	Δ Ca	Δ P	Δ Mg	Δ G								
1	0,96	1,08	0,19	0,21	0,58	0,76	0,11	0,22	0,43	0,61	0,08	0,28	0,37	0,59	0,11	0,21								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	0,27	0,39	0,04	0,09	0,10	0,20	0,06	0,10	0,10	0,20	0,02	0,04	0,11	0,16	0,04	0,13								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	(5)																							
2	1,23	1,40	0,27	0,26	0,91	1,27	0,20	0,28	0,80	0,91	0,13	0,17	0,66	0,83	0,16	0,29								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	0,18	0,32	0,08	0,09	0,07	0,05	0,07	0,04	0,13	0,19	0,04	0,06	0,10	0,13	0,04	0,13								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	(6)																							
3	2,93	3,01	0,43	0,24	1,89	2,06	0,39	0,23	1,19	1,67	0,28	0,28	0,98	1,04	0,27	0,31								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	0,21	0,47	0,11	0,08	0,28	0,38	0,13	0,09	0,15	0,28	0,10	0,06	0,32	0,27	0,11	0,09								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	(7)																							
4	2,37	3,08	0,44	0,31	1,97	2,12	0,38	0,39	1,30	1,49	0,34	0,28	0,96	1,12	0,39	0,24								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	0,30	0,64	0,16	0,04	0,20	0,31	0,15	0,12	0,12	0,27	0,10	0,09	0,24	0,34	0,14	0,08								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	(3)																							
5	2,57	3,28	0,46	0,29	1,89	2,26	0,41	0,37	1,38	1,53	0,39	0,31	1,03	1,20	0,33	0,26								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	0,28	0,49	0,19	0,06	0,39	0,37	0,19	0,09	0,27	0,33	0,18	0,10	0,17	0,42	0,10	0,07								
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$								
	(7)																							

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'observations.

Δ Ca, Δ P, Δ Mg sont exprimés en mg/100 ml ; Δ G en g/l.

FIGURE 3 : CALCIUM PLASMATIQUE TOTAL ET ULTRAFILTRABLE CHEZ 4 VACHES PARTURIENTES, DONT 2 ATTEINTES D'HYPOCALCEMIE.



significativement plus accentuées que chez les animaux parturiens normaux. Cependant l'hyperglycémie n'est pas significativement modifiée (tableau 3).

TABEAU 3 : CALCÉMIE, PHOSPHATÉMIE, MAGNÉSÉMIE ET GLYCÉMIE CHEZ 39 VACHES ATTEINTES D'HYPOCALCÉMIE VITULAIRE DANS LES 24 H SUIVANT LE VÊLAGE.

RACE	JERSIAISE	FRISONNE	MONTBELIARDE	BLONDE DE L'OUEST	LIMOUSINE	Moyenne Générale
	(9)	(17)	(4)	(6)	(3)	(39)
Ca (mg/100 ml)	4,91 ± 0,21	6,31 ± 0,32	6,49 ± 0,59	6,89 ± 0,21	6,91 ± 0,37	5,38 ± 0,37
P (mg/100 ml)	1,32 ± 0,62	2,02 ± 0,27	1,91 ± 0,38	2,87 ± 0,49	2,73 ± 0,45	1,98 ± 0,42
Mg (mg/100 ml)	2,88 ± 0,17	2,62 ± 0,08	2,64 ± 0,09	2,53 ± 0,19	2,79 ± 0,17	2,68 ± 0,25
Glucose (g/l)	0,98 ± 0,10	0,89 ± 0,04	0,88 ± 0,11	0,92 ± 0,11	0,84 ± 0,09	0,91 ± 0,07

* 4 Blondes des Pyrénées + 1 Garonnaise + 1 Bazadaise

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux utilisés.

La race semble avoir une influence significative sur les valeurs de la calcémie et de la phosphatémie observées au cours du syndrome vitulaire. Ainsi l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie sont significativement plus marquées chez les vaches Jersiaises que chez les autres animaux atteints. Il n'existe pas de différence significative entre les races en ce qui concerne l'hypermagnésiémie.

Comme chez les vaches normales, les variations du taux de calcium plasmatique ultrafiltrable sont parallèles à celles de la calcémie dans les heures précédant et suivant la parturition (figure 3).

Sur 47 vaches présentant le syndrome vitulaire, 39 (soit 83 %) ont été atteintes dans les 24 h suivant le vêlage et 4 (soit 8,5 %) 48 h après celui-ci. 3 Frisones ont présenté un syndrome très voisin 3 semaines plus tard. Ces 3 animaux, bien qu'incapables de se lever, n'étaient ni comateux ni hypothermiques et s'alimentaient normalement. Ils

présentaient une légère hypocalcémie ($\text{Ca} = 7,48 \pm 0,27 \text{ mg/100 ml}$), une hypophosphatémie très accentuée ($\text{P} = 0,98 \pm 0,31 \text{ mg/100 ml}$). Magnésémie ($2,01 \pm 0,09 \text{ mg/100 ml}$) et glycémie ($0,67 \pm 0,09 \text{ g/l}$) étaient normales.

Une vache Jersiaise a présenté les manifestations biochimiques caractéristiques du syndrome vitulaire 6 jours avant le vêlage. Cependant les manifestations cliniques ont été très atténuées (sommolence, tremblements au niveau des masses musculaires) et n'ont pas nécessité de soins particuliers. Au vêlage les modifications biochimiques plasmatiques ont été très atténuées (figure 4).

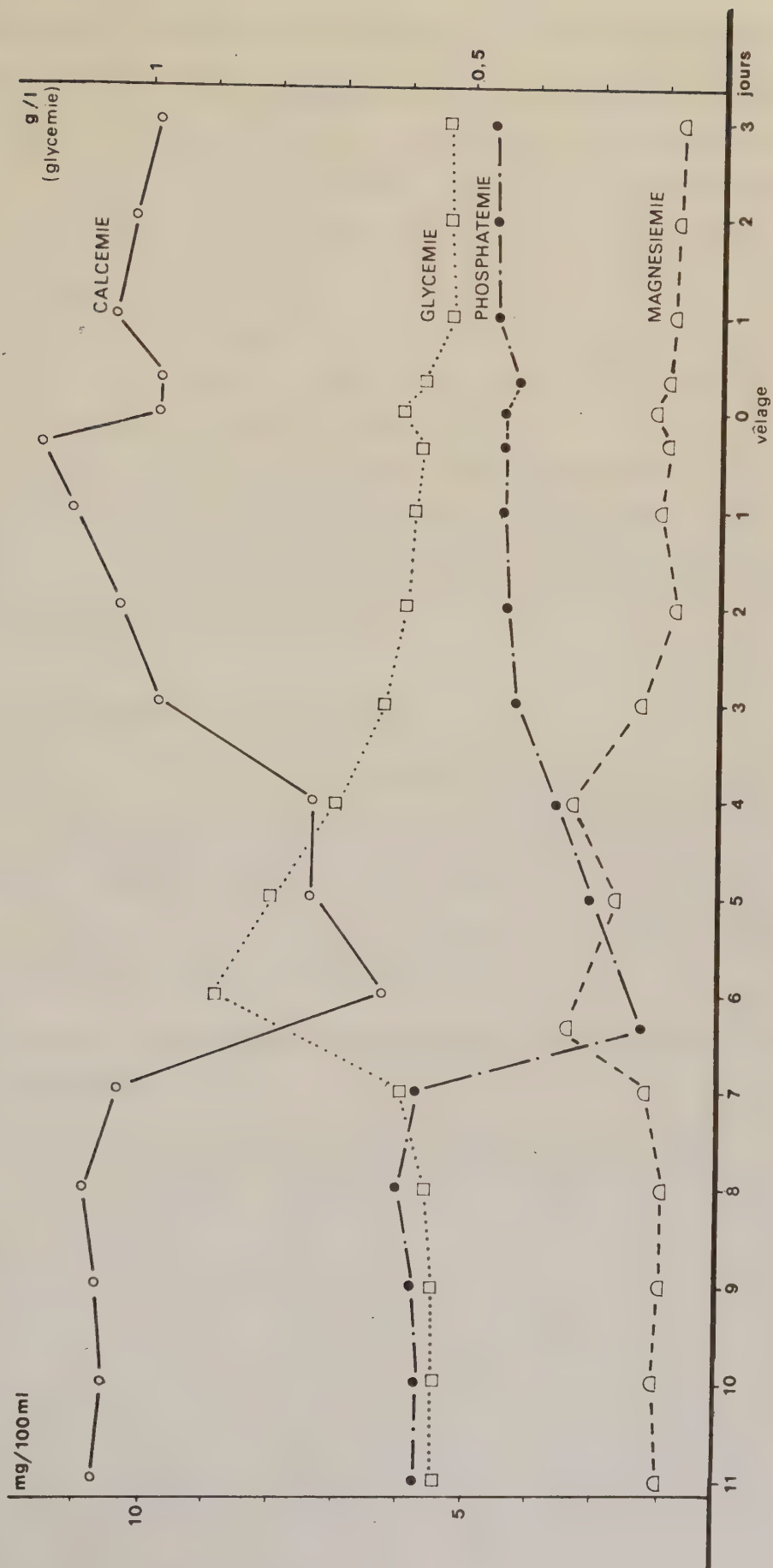
Les veaux âgés de 12 à 24 h, issus de vaches présentant le syndrome vitulaire dans les 24 h suivant la mise bas, ont une calcémie et une phosphatémie significativement inférieures à celles des veaux de même âge issus de vaches normales. Il n'existe pas de différence significative entre la magnésémie et la glycémie de ces 2 groupes de veaux (tableau 4).

TABEAU 4 : CALCÉMIE, PHOSPHATÉMIE, MAGNÉSÉMIE ET GLYCÉMIE DES VEAUX NÉS DE VACHES PRÉSENTANT LE SYNDROME VITULAIRE

	Témoins (23)	Veaux nés de vaches hypocalcémiques (11)
Ca (mg/100 ml)	$11,07 \pm 0,14$	$9,83 \pm 0,48$
P (mg/100 ml)	$6,83 \pm 0,17$	$6,05 \pm 0,40$
Mg (mg/100 ml)	$2,10 \pm 0,05$	$2,11 \pm 0,19$
Glucose (g/l)	$1,02 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,05$

Comme chez les veaux témoins, la calcémie et la phosphatémie de ces animaux est significativement supérieure à celle de leur mère ; et, comme chez les témoins, nous n'avons pas trouvé de corrélation significative entre la calcémie et la phosphatémie du nouveau-né et celle de la mère.

FIGURE 4 : HYPOCALCEMIE AVANT LA PARTURITION CHEZ UNE VACHE JERSIAISE DE SEPT ANS (CINQUIEME VELEGE).



IV. Effet de l'insufflation mammaire et de l'injection calcique sur la calcémie de la vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire

Comme le montre la figure 5, l'injection de 20 mg de Ca/kg de poids vif chez la vache hypocalcémique entraîne une hypercalcémie hautement significative (Ca = $18,00 \pm 1,00$ mg/100 ml) qui s'estompe très rapidement (3h 40 mn plus tard, Ca = $9,5 \pm 0,5$ mg/100 ml). 24 h après le traitement la vache est de nouveau hypocalcémique (Ca = $5,5 \pm 0,7$ mg/100 ml). 2 des 3 vaches ainsi traitées ont d'ailleurs récidivé à 24 h d'intervalle (chez une vache la calcémie était retombée à 4,95 mg/100 ml et chez l'autre à 5,30 mg/100 ml).

Chez les 3 animaux traités par insufflation mammaire la remontée de la calcémie est beaucoup plus lente, mais 24 h plus tard la calcémie de ces 3 animaux est significativement supérieure à celle des animaux ayant reçu le glutamate de calcium. Aucun des 3 animaux traités n'a d'ailleurs présenté de récurrence.

V. Chez la Chèvre et chez la Brebis

Chez les 6 Chèvres observées, comme chez les Vaches, la parturition est associée à une hypocalcémie, une hypophosphatémie, une hypermagnésiémie et une hyperglycémie significatives. Comme chez la Vache, hypermagnésiémie, hyperglycémie et hypophosphatémie sont maxima au moment même de la parturition, alors que la calcémie n'atteint son niveau le plus bas que 4 jours plus tard (tableau 5).

TABLEAU 5 : CALCÉMIE, PHOSPHATÉMIE, MAGNÉSIE ET GLYCÉMIE CHEZ 6 CHEVRES PARTURIENTES

Jours :	- 7 :	- 2 :	- 1 :	0 :	+ 1 :	+ 2 :	+ 3 :	+ 4 :	+ 5 :	+ 6 :	+ 7 :
Ca *	8,36	8,29	8,19	6,93	6,60	6,62	6,58	6,50	7,10	7,92	8,29
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,19	0,28	0,37	0,20	0,18	0,19	0,27	0,07	0,07	0,18	0,31
P *	8,40	8,10	8,10	5,01	7,70	8,45	8,69	6,65	6,90	7,69	8,00
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,64	0,59	0,61	0,77	0,53	0,02	1,35	0,62	0,40	0,58	0,40
Mg *	2,59	2,48	2,67	3,13	2,87	2,65	2,32	2,10	2,37	2,48	2,50
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,12	0,11	0,14	0,17	0,26	0,28	0,20	0,11	0,30	0,09	0,11
Glucose **	0,56	0,60	0,73	1,49	0,58	0,62	0,54	0,54	0,54	0,56	0,57
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,07	0,10	0,12	0,37	0,09	0,08	0,03	0,04	0,04	0,01	0,04

* Valeurs exprimées en mg/100 ml.

** Valeurs exprimées en g/l.

Nous avons d'ailleurs observé chez 2 chèvres, respectivement 8 et 17 jours après la mise-bas un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire de la vache (Tableau 6). Comme les vaches, les animaux étaient rapidement guéris par injection de glutamate de calcium (150 ml d'une solution à 7,5 g/l de Ca).

TABLEAU 6 : HYPOCALCEMIE CHEZ LA CHEVRE

(Jours après	:		:		:
(la mise bas	:	+ 8	:	+ 17	:
(-----	:		:		:
(Ca	:		:		:
((mg/100 ml)	:	3,10	:	2,97	:
(-----	:		:		:
(P	:		:		:
((mg/100 ml)	:	2,43	:	4,12	:
(-----	:		:		:
(Mg	:		:		:
((mg/100 ml)	:	2,17	:	2,12	:
(-----	:		:		:
(Glucose	:		:		:
((g/l)	:	1,37	:	1,83	:
(-----	:		:		:

Chez 17 brebis nous n'avons observé aucune modification significative de la calcémie, de la phosphatémie, de la magnésémie et de la glycémie dans les jours précédant ou suivant l'agnelage (tableau 7).

TABLEAU 7 : CALCÉMIE, PHOSPHATÉMIE, MAGNÉSÉMIE ET GLYCÉMIE DE 17 BREBIS LIMOUSINES DANS LES JOURS PRÉCÉDANT ET SUIVANT L'AGNELAGE

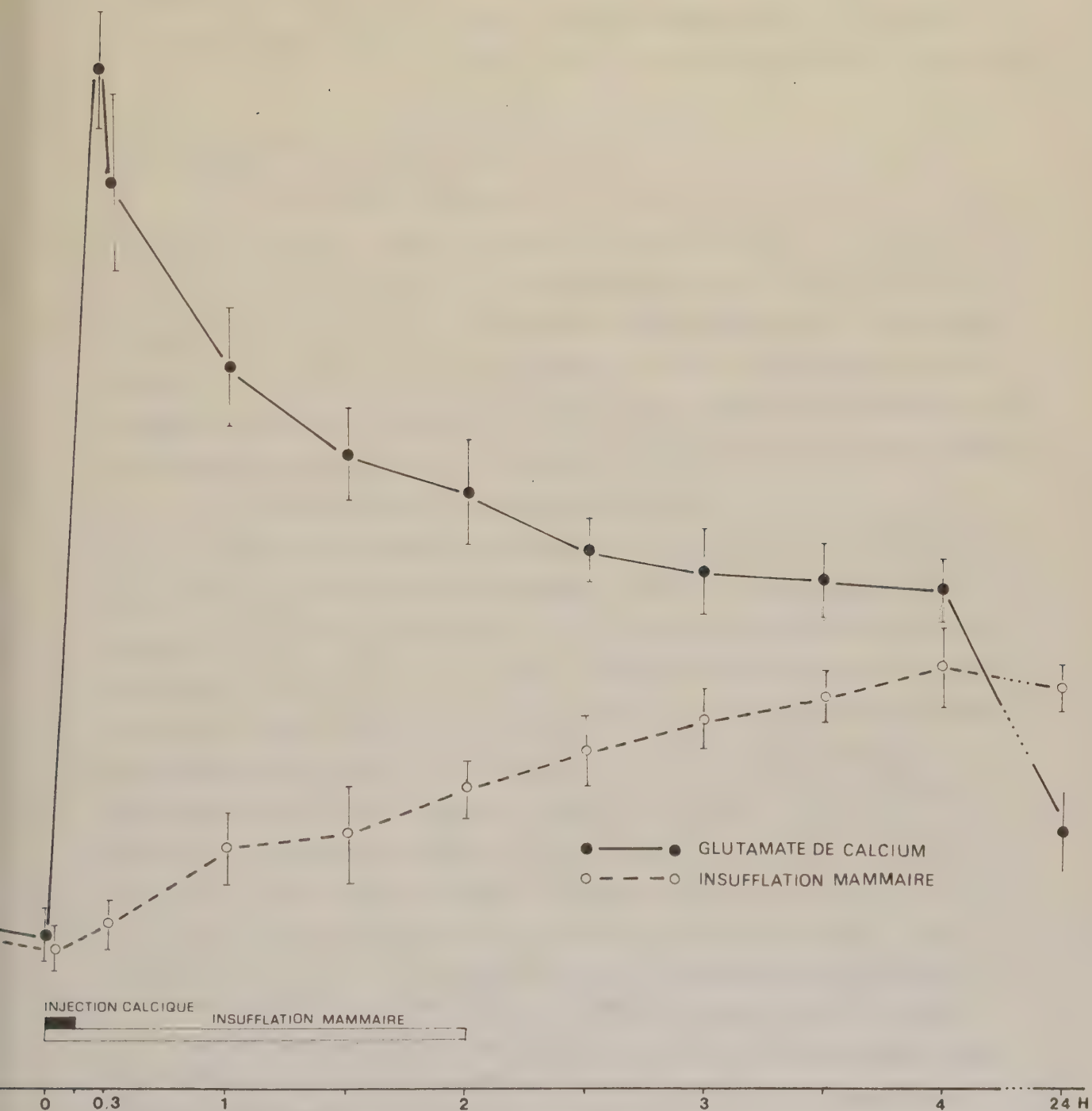
(Jours :	- 6 :	- 5 :	- 4 :	- 3 :	- 2 :	- 1 :	0 :	+ 1 :	+ 2 :	+ 3 :	+ 4 :	+ 5 :	+
(-----	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
(*	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
(Ca	:	9,71:	9,70:	9,64:	9,67:	9,78:	9,59:	9,48:	9,57:	9,64:	9,71:	9,73:	9,70:
(:	:	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :
(:	:	0,12:	0,17:	0,20:	0,19:	0,29:	0,31:	0,25:	0,19:	0,14:	0,18:	0,22:	0,28:
(-----	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
(*	:	3,40:	3,47:	3,59:	3,48:	3,58:	3,70:	3,72:	3,66:	3,70:	3,87:	3,61:	3,74:
(P	:	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :
(:	:	0,16:	0,21:	0,39:	0,47:	0,44:	0,30:	0,25:	0,41:	0,38:	0,43:	0,33:	0,29:
(-----	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
(*	:	1,98:	1,92:	1,96:	1,99:	1,91:	1,90:	1,92:	1,94:	1,96:	1,89:	1,91:	1,90:
(Mg	:	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :
(:	:	0,07:	0,02:	0,04:	0,04:	0,06:	0,10:	0,09:	0,13:	0,11:	0,12:	0,10:	0,04:
(-----	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
(**	:	0,56:	0,55:	0,50:	0,54:	0,50:	0,52:	0,58:	0,60:	0,58:	0,58:	0,57:	0,60:
(Glucose	:	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :	± :
(:	:	0,01:	0,05:	0,10:	0,11:	0,08:	0,09:	0,02:	0,10:	0,04:	0,04:	0,10:	0,10:
(:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:

* Valeurs exprimées en mg/100 ml.

** Valeurs exprimées en g/l.

FIGURE 5 : EFFET DE L'INSUFFLATION MAMMAIRE ET DE L'INJECTION CALCIQUE SUR LA CALCÉMIE
DE LA VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCÉMIE VITULAIRE.

(g/100ml)



Il ne semble pas que cette constance des paramètres sanguins au moment de l'agnelage soit un caractère propre à la race limousine, ni que des variations de très courte durée soient passées inaperçues. En effet, des prélèvements de sang effectués toutes les heures pendant 6 h avant et 10 h après l'agnelage sur une brebis de race Berrichonne du Cher ont montré que la calcémie est restée stable ($9,48 \pm 0,11$ mg/100 ml), comme la phosphatémie ($4,01 \pm 0,18$ mg/100 ml), la magnésiémie ($1,92 \pm 0,08$ mg/100 ml) et la glycémie ($0,54 \pm 0,02$ g/l).

C - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Nos résultats montrent que, quelle que soit la race considérée, la parturition est, chez la Vache comme chez la Chèvre, normalement associée à une hypocalcémie, à une hypophosphatémie, à une hypermagnésiémie et une hyperglycémie. Hypocalcémie, hypophosphatémie et hypermagnésiémie s'accroissent significativement du 1er au 3ème vêlage, à partir duquel la production laitière est en général maximum. Des résultats analogues avaient été précédemment obtenus chez des vaches de race Ayrshire et Shorthorn (MOODIE, MARR et ROBERTSON, 1955).

Chez la Brebis, la production laitière pendant la première semaine après l'agnelage peut entraîner une perte de calcium supérieure à 45 mg/j/kg de poids vif (BRAITHWAITE, GLASCOCK et RIAZZUDIN, 1969 ; 1970). Cependant, contrairement à ce qui semble se passer chez la Vache, (SYMONDS et col., 1966) il ne semble pas apparaître des besoins accrus, en calcium à la parturition : ceci pourrait expliquer l'absence d'hypocalcémie, physiologique ou pathologique, au moment de l'agnelage ((BRAITHWAITE, GLASCOCK et RIAZZUDIN, 1970). Les rares cas d'hypocalcémies observées chez la Brebis surviennent plus de 7 jours après la mise bas (LITTLEJOHN et HEBERT, 1969), ou bien avant celle-ci (THERIEZ et BARLET, Données non publiées), et leur étiologie est très mal connue.

Le déclenchement de la lactation est, chez la Vache, considéré comme responsable de l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie survenant au vêlage (LITTLE et WRIGHT, 1926 ; SYMONDS et col., 1966) . Du fait de la teneur élevée du lait en lactose (45 g/l), dont 80% semblent provenir de glucose sanguin (LELOIR et CARDINI, 1961), une hypoglycémie devrait donc accompagner cette hypocalcémie et cette hypophosphatémie. De plus les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire ne produisent pas davantage de colostrum que les vaches normales, et ce colostrum n'est pas plus riche en minéraux (HIBBS, 1948). Si l'accroissement soudain des besoins en calcium et en phosphore était l'unique cause de l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie, le déclenchement de la lac-

l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie, le déclenchement de la lactation par la traite avant vêlage devrait réduire l'incidence de l'hypocalcémie vitulaire, ce qui n'est pas le cas (SMITH et BLOSSER, 1947). De même la suppression totale ou partielle de la traite après vêlage est sans effet significatif sur l'apparition du syndrome (NIEDERMEIER et SMITH, 1948 ; JONSGARD, 1965). De plus la mastectomie effectuée avant vêlage inhibe partiellement l'hypocalcémie mais ne modifie significativement ni l'hypophosphatémie, ni l'hypermagnésiémie (NIEDERMEIER, SMITH et WHITEHAIR, 1949). Enfin le syndrome vitulaire peut apparaître plusieurs jours avant le déclenchement de la sécrétion lactée et la mise bas (Figure 4). Il semble donc logique de penser, que, chez la Vache, le déclenchement de la lactation, puisse potentialiser l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie survenant à ce stade physiologique. Mais le début de la sécrétion lactée ne paraît pas être la cause primordiale des modifications biochimiques survenant à la parturition, puisque celles-ci peuvent apparaître plusieurs jours avant.

Contrairement à certains résultats faisant apparaître une élévation très importante du taux de calcium ionisé chez une vache parturiente (BACH et MESSERVY, 1969), nous avons constaté que les variations du taux de calcium ultrafiltrable plasmatique étaient parallèles à celles de la calcémie. Chez la vache parturiente normale ou très hypocalcémique, comme chez la Brebis (BARLET et col., 1971), il n'apparaît pas d'augmentation du taux de calcium ultrafiltrable dans les heures précédant ou suivant la parturition (figure 3). Ce résultat est en accord avec d'autres travaux qui n'ont pas pu mettre en évidence une augmentation du calcium ionisé chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire (HALLGREEN, CARLSTROM et JONSSON, 1959 ; CARLSTROM, 1961).

L'effet de l'insufflation mammaire sur la calcémie de la vache présentant le syndrome vitulaire paraît significativement plus atténué et plus durable que celui de l'injection calcique (Figure 5). Des études effectuées à l'aide du ⁴⁵Ca chez la Vache (MARSHAK, 1956 ; MANUNTA, MARONGIU et NUVOLE, 1963a) et chez la Brebis (MANUNTA, MARONGIU et NUVOLE, 1963b) ont montré que l'insufflation mammaire provoquait un reflux de l'élément marqué du lait vers le sang, contraire au mouvement unidirectionnel normal du calcium du sang vers le lait (TWARDOCK et COMAR, 1961). De plus l'insufflation mammaire diminue la production lactée de 20 à 50 % pendant 24 h (MAYER, RAMBERG et KRONFELD, 1966). Ces observations suffisent à expliquer l'effet lent mais durable sur la calcémie.

Les raisons pour lesquelles la calcémie des veaux issus de vaches qui présentent le syndrome vitulaire dans les 24 h suivant la parturition est inférieure à celle des veaux nés de vaches normales sont inconnues. Si l'on sait depuis longtemps (SATO, 1933) que la calcémie du veau nouveau-né est significativement supérieure à celle de sa mère, nous n'avons pu trouver dans la littérature aucun renseignement concernant la calcémie de tels veaux. Cependant la parathyroïdectomie effectuée chez la Ratte gestante entraîne une hypocalcémie chez les nouveaux-nés (FAIRNEY et WEIR, 1970).

Dans les 24 h précédant la parturition la calcémie des 2 groupes de vaches n'est pas significativement différente ($8,27 \pm 0,39$ mg/100 ml pour les témoins, $8,09 \pm 0,28$ pour les vaches hypocalcémiques). Mais, chez la Ratte gestante, l'injection de calcitonine entraîne une hypocalcémie et une hypophosphatémie chez le fœtus (GAREL, MILHAUD et JOST, 1968). Or la phosphatémie de ces veaux est également significativement inférieure à celle des témoins (tableau 4). Il est donc possible d'envisager que la calcitonine intervienne au niveau des transports phosphocalciques placentaires (qui paraissent primordiaux pour le maintien de la calcémie et de la phosphatémie fœtale chez le Rat) (PIC, 1970) pour entraîner cette hypocalcémie et cette hypophosphatémie.

Ces observations, et surtout l'absence d'explication valable à l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie du vêlage, nous ont conduit à l'étude du rôle de la calcitonine dans le métabolisme phospho-calcique de la vache laitière.

DEUXIEME PARTIE

EFFETS DE LA CALCITONINE EXOGENE SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DES RUMINANTS

Pour étudier le rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phosphocalcique nous avons commencé par voir si l'administration de calcitonine exogène avait un effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie de l'animal (chapitre I), et quels facteurs pouvaient potentialiser ou inhiber cet effet (chapitre II). Nous avons ensuite essayé de reproduire un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire (chapitre III) et comparé les effets cliniques et biochimiques de la calcitonine chez la Vache et chez la Brebis (chapitre IV).

CHAPITRE I

REPOSE DE LA VACHE A L'ADMINISTRATION DE CALCITONINE

Pour évaluer l'action de la calcitonine chez la Vache, nous avons mesuré la calcémie et la phosphatémie de l'animal avant, pendant et après une perfusion intraveineuse de calcitonine.

A - MATERIEL ET METHODES

8 vaches de 30 mois, pesant 310 ± 17 kg, primipares, en lactation depuis 5 semaines ont été utilisées. 4 animaux ont reçu en 30 mn 20 U M.R.C. de calcitonine porcine (1 U/mg), dissoute dans 300 ml d'un tampon acétate de soude à pH = 4.6 . 4 témoins ont reçu pendant le même temps le même volume de solvant. Les échantillons de sang ont été recueillis sur les animaux 30 mn avant la perfusion, au début (0) et à la fin (0,5) de celle-ci, et aux temps 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 24 h.

B - RESULTATS

Comme le montre la figure 6, la calcémie est abaissée de façon significative de $1,9 \pm 0,4$ mg/100 ml ($p < 0,01$) 1,5 h après la fin de la perfusion.

Au même moment, la phosphatémie est elle aussi abaissée de façon hautement significative de $2,4 \pm 0,6$ mg/100 ml ($p < 0,01$).

Nous n'avons pas constaté d'effet significatif de la calcitonine sur la magnésiémie des animaux (tableau 8).

En outre, chez une vache dont la calcémie avait chuté de 10,6 à 7,60 mg/100 ml et la phosphatémie de 5,35 à 2,88 mg/100 ml, nous avons observé des symptômes cliniques rappelant une hypocalcémie vitulaire fruste : animal couché avec la tête en position d'autoauscultation, refroidissement des extrémités, insensibilité du train postérieur à la piqure.

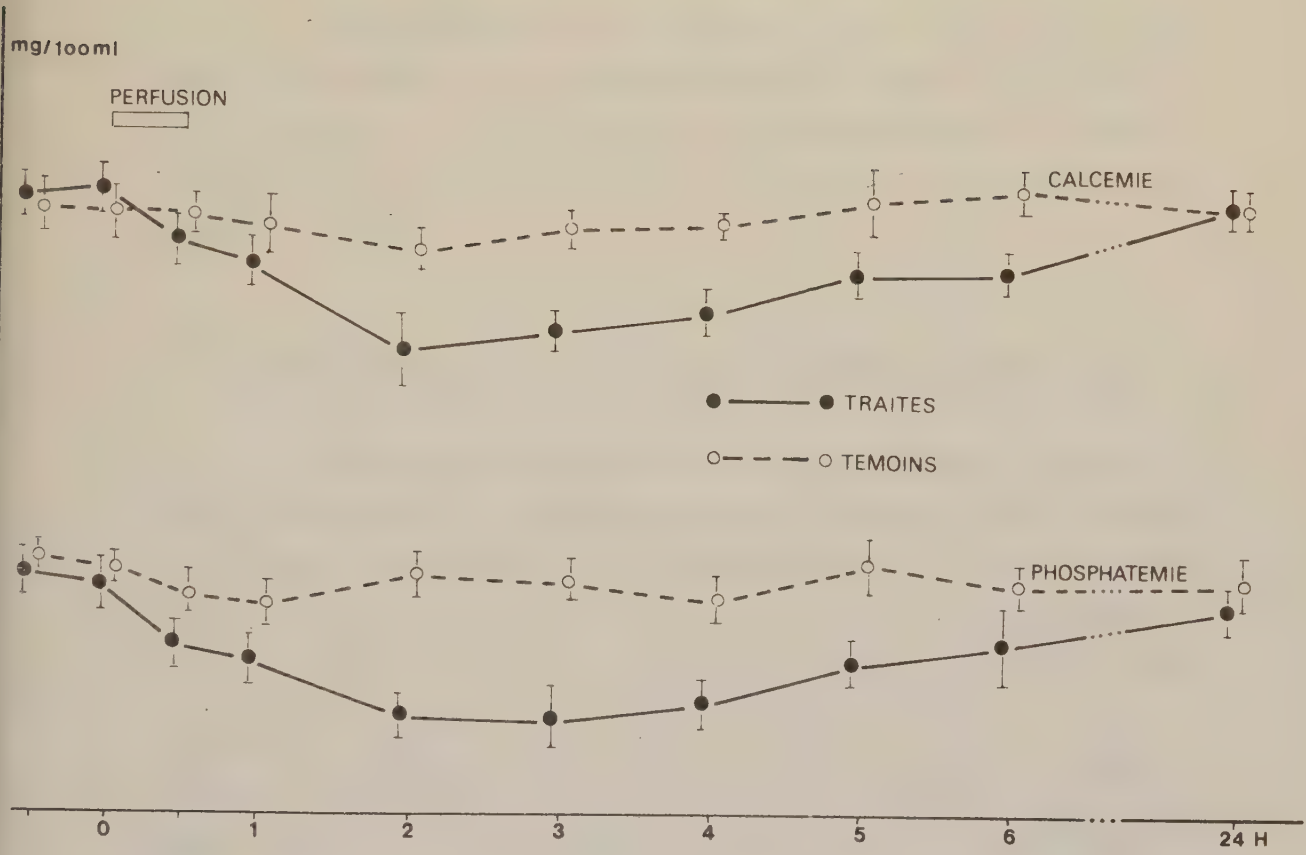
C - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La Vache, comme les autres Mammifères, répond à l'administration de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives et le rapport des activités hypocalcémiantes et hypophosphatémiantes est voisin de 1 (MILHAUD et col., 1966).

Bien qu'une hypomagnésiémie ait été rapportée après injection de calcitonine à des rats (PALMIERI, THOMPSON et ELIEL, 1969) ou à des poulets (LLOYD et COLLINS, 1970), chez la Vache comme chez la Chèvre (FOSTER et col., 1963), et le Porc (CARE, 1965), la calcitonine ne semble pas avoir d'effet significatif sur la magnésiémie. Puisque la calcitonine peut induire chez la Vache une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives cela pourrait indiquer que cette hormone intervient dans la régulation du métabolisme phosphocalcique de l'animal, et ainsi, peut être joue-t-elle un rôle dans le syndrome vitulaire.

Pour apporter un argument à cette hypothèse, il fallait donc essayer d'induire un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire par administration de calcitonine à des vaches. Ceci nous a tout d'abord conduit à étudier les facteurs susceptibles de potentialiser l'effet hypocalcémiant et hypophosphatémiant de l'hormone chez les Bovins.

FIGURE 6 : EFFETS DE LA CALCITONINE SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DE LA VACHE LAITIÈRE.



CHAPITRE II

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR LA REPONSE DES BOVINS

A LA CALCITONINE

Nous rapportons ici l'influence de l'âge, du sexe, du stade physiologique, de la thyroïdectomie, du jeûne, de la durée de la perfusion, de la nature de la calcitonine et de la répétition des injections sur la réponse des Bovins à l'administration de calcitonine.

A - INFLUENCE DE L'AGE : EFFETS DE LA CALCITONINE CHEZ LE VEAU

Une hypersécrétion de calcitonine endogène provoquée par la perfusion de la thyroïde in situ, avec une solution riche en calcium, ne provoque pas d'hypocalcémie chez le Veau, contrairement à ce qui se passe chez la Chèvre et chez la Brebis (CARE, WEBSTER et DUNCAN, 1966). Le résultat paraissait surprenant après ceux que nous avons obtenus chez la Vache. En effet, chez les Mammifères, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine est proportionnel à l'intensité du catabolisme osseux (MILHAUD et col., 1966), généralement plus intense chez le jeune animal. Nous avons donc voulu vérifier les résultats de A.D. CARE chez le Veau.

Matériel et méthodes:

.....

Nous avons utilisé 9 veaux Frisons (6 ♀ et 3 ♂) âgés de 7 semaines, pesant 60 ± 4 kg et 1 veau Salers (♂ castré) de 7 mois pesant 174 kg. Les animaux ont été mis à jeun 16 h avant l'expérimentation. 9 U M.R.C. de calcitonine porcine purifiée (1 U/mg) dissoute dans 100 ml de tampon acétate de soude, à pH = 4.6, ont été administrés au cours d'une perfusion intraveineuse de 30 mn à 5 Frisons (3 ♀ et 2 ♂) et au Salers. Les 4 autres veaux Frisons, utilisés comme témoins, ont reçu pendant le même temps, le même volume de solvant. Les prélèvements de sang ont été effectués 30 mn avant le début de la perfusion (- 0,5), au début (0) et à la fin (+ 0,5) de celle-ci, et aux temps 1, 2, 4 et 24 h.

Résultats :
.....

Chez les 5 veaux Frisons traités, bien que l'on observe une tendance à la baisse de la calcémie, calcémie qui est minima 2h après la fin de la perfusion, cette différence n'est significative ni par rapport à la calcémie initiale des animaux (pour 84 D.L., $t = 0,899$, pour $P \leq 0,05$, $t = 2,306$) ni par rapport à celle des témoins au même moment (pour 7 D.L., $t = 0,992$, pour $P \leq 0,05$, $t = 2,365$). Il en est de même pour la phosphatémie. 2 h après la fin de la perfusion, temps où la phosphatémie des animaux est la plus basse, la différence n'est significative ni avec la phosphatémie initiale des animaux (pour 8 D.L., $t = 0,983$) ni avec celle des témoins au même moment (pour 7 D.L., $t = 1,332$).

Chez le veau Salers on observe une tendance à la baisse de la calcémie et de la phosphatémie qui paraît plus accentuée que chez les veaux Frisons (tableau 9).

Discussion et conclusions :
.....

Contrairement à ce qui se passe chez les autres Mammifères : Mouton (CARE et DUNCAN, 1967), Rat (MILHAUD, LI TSIEN MING, NESRALLA, MOUKHTAR et PERAULT-STaub, 1968 ; COPP et KUCZERPA, 1968), la calcitonine, qui possède un effet hypocalcémiant et hypophosphatémiant significatif chez la Vache, paraît sans effet chez le jeune Veau. Un travail, qui confirme l'absence d'hypocalcémie significative à la suite d'une hypersécrétion de calcitonine endogène chez le veau âgé de 15 à 30 jours, fait état d'une hypocalcémie survenant chez le même animal après administration d'une dose de calcitonine analogue à celle que nous avons employée, sans préciser si l'hypocalcémie observée est significative (PHILLIPPO, CARE et HINDE, 1969).

Les résultats que nous avons obtenus semblent pouvoir s'expliquer par la relation suivante proposée par MILHAUD (1968) :

$$\Delta Ca = Ca \times \frac{Vo^-}{P}, \text{ où}$$

ΔCa = variation horaire de la calcémie due à la calcitonine injectée.

Ca = calcémie initiale

Vo^- = catabolisme osseux

P = masse de calcium rapidement échangeable ($M + M_1 + M_2$)

à l'exclusion du compartiment M_3 échangé moins rapidement.

TABEAU 9 : EFFETS DE LA CALCITONINE SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DU VEAU

		Temps (h)	- 0,5	0 *	+ 0,5**	+ 1	+ 2	+ 4	+ 24
TRAITES (5)	Frisons								
		Ca	11,35 ± 0,38	11,30 ± 0,39	11,00 ± 0,24	10,80 ± 0,25	10,70 ± 0,29	10,97 ± 0,37	11,39 ± 0,38
	P								
			8,64 ± 0,59	8,70 ± 0,67	8,00 ± 0,49	7,80 ± 0,71	7,60 ± 0,52	8,00 ± 0,42	8,69 ± 0,49
	Salers								
		Ca	10,80	10,82	10,50	10,30	10,05	10,40	10,85
	(1)	P	7,62	7,64	7,58	7,00	5,84	6,18	7,62
		Ca	11,18 ± 0,20	11,15 ± 0,20	10,80 ± 0,30	10,80 ± 0,24	10,95 ± 0,32	10,95 ± 0,20	11,20 ± 0,30
	TEMOINS (4)								
		P	8,48 ± 0,29	8,60 ± 0,30	8,40 ± 0,17	8,58 ± 0,29	8,38 ± 0,41	8,30 ± 0,37	8,38 ± 0,18

* Début de la perfusion
** Fin de la perfusion

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux utilisés.
Ca et P sont exprimés en mg/100 ml.

On peut obtenir une approximation de ce calcul en remplaçant V_o par V_T (vitesse totale de sortie du calcium hors du pool), ce qui constitue une estimation valable lorsque les animaux sont à jeun, comme ceux utilisés ici, et en prenant comme valeur de P le calcium total échangeable en 2 à 3 jours ($M + M_1 + M_2 + M_3$). Ces paramètres ont été mesurés chez le Veau (LARVOR, GIRARD et BROCHART, 1964) et la relation précédente nous donne :

$$\begin{aligned} \text{pour un veau de 50 kg : } \Delta Ca &= 100 \times \frac{6000}{60000} = 1 \text{ mg/l/h, soit } 1\% \text{ par heure} \\ \text{pour un veau de 75 kg : } \Delta Ca &= 100 \times \frac{940}{62480} = 1,5 \text{ mg/l/h, soit } 1,5\% \text{ par heure} \end{aligned}$$

Ces baisses sont d'un ordre de grandeur trop faible pour être mises en évidence sur un nombre restreint d'animaux. Néanmoins le calcul précédent confirme, qu'en l'espace d'un mois, chez un veau normal, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine a tendance à devenir plus intense.

Les paramètres du métabolisme calcique ont également été mesurés chez la Chèvre (PAYNE et SANSOM, 1964) et chez le Mouton (YOUNG, LUICK et LOFGREEN, 1966). Si l'on effectue le calcul précédent pour la Chèvre et le Mouton, on obtient des abaissements théoriques de la calcémie de respectivement 1,15 et 5,34 %. Or les baisses obtenues chez le Veau, le Mouton et la Chèvre, lors d'une hypersécrétion de calcitonine endogène ont été respectivement de 0 %, 2 % et 7 % (CARE, WEBSTER et DUNCAN, 1966). Si elles ne sont pas absolument identiques à celles obtenues par le calcul (de nombreux facteurs peuvent faire varier les éléments du métabolisme calcique), elles varient cependant dans le même sens.

L'absence d'action de la calcitonine sur la calcémie et la phosphatémie du jeune veau contraste avec la sensibilité marquée de la vache adulte à l'hormone. Elle s'explique vraisemblablement par l'évolution en fonction de l'âge du rapport entre le catabolisme osseux et le calcium rapidement échangeable.

B - INFLUENCE DU SEXE ET DU STADE PHYSIOLOGIQUE DE L'ANIMAL

La comparaison de l'effet hypocalcémiant de la calcitonine chez les bovins ♂ et ♀ pose un certain nombre de problèmes pour l'établissement du protocole expérimental. Ne disposant pas

de taureaux, nous avons dû utiliser des boeufs. De plus, chez la Vache, la lactation semble perturber considérablement les échanges calciques au niveau de l'os (SANSOM, 1969).

Aussi avons nous comparé l'effet de la calcitonine chez le Boeuf, la vache tarie et la vache en lactation. Chez cette dernière, nous avons en outre observé l'influence de la parturition et de l'oestrus.

Matériel et méthodes :

3 boeufs Frisons de 30 mois, pesant 480 ± 7 kg, et 12 vaches Jersiaises pesant 320 ± 14 kg ont été utilisés.

Les 3 boeufs et 6 vaches de 4 ans (3 tarées + 3 en lactation) ont reçu par perfusion veineuse, en 2 h, 0,5 U M.R.C./kg de poids vif de calcitonine porcine purifiée (ARMOUR - 65 U/mg) dissoute dans 300 ml de tampon acétate de soude à pH = 4.6 contenant 0,1 % d'albumine. 3 vaches témoins ont reçu pendant le même temps le même volume de solvant. Une vache de 5 ans en lactation depuis 29 jours au moment de l'oestrus, a reçu ce jour là, pendant le même temps, la même dose de la même calcitonine, et ce traitement a été répété 11 jours plus tard. A 2 autres vaches de 6 ans nous avons administré le traitement de la même façon, à chacune respectivement 12 h et 40 jours après le vêlage. Les prélèvements de sang sont effectués aux temps 0, 1, 2, 3, 4, 6 et 8 h.

Résultats :

Chez la vache tarie, ou en lactation, comme chez le Boeuf, la calcitonine induit une hypocalcémie significative dès la fin de la perfusion ($P < 0,01$). La calcémie est à son niveau le plus bas, chez les 3 groupes d'animaux, 1 h plus tard.

La baisse de la calcémie, chez les vaches tarées n'est à aucun moment significativement différente de celle observée chez les boeufs. Par contre elle est plus accentuée de façon hautement significative ($P < 0,01$) à la fin de la perfusion chez les vaches en lactation que chez les vaches tarées ou les boeufs. Cette différence hautement significative entre les vaches en lactation et les 2 autres groupes persiste d'ailleurs jusqu'à la 6ème heure (figure 7). Nous avons obtenu des résultats tout à fait analogues en ce qui concerne la phosphatémie (tableau 10).

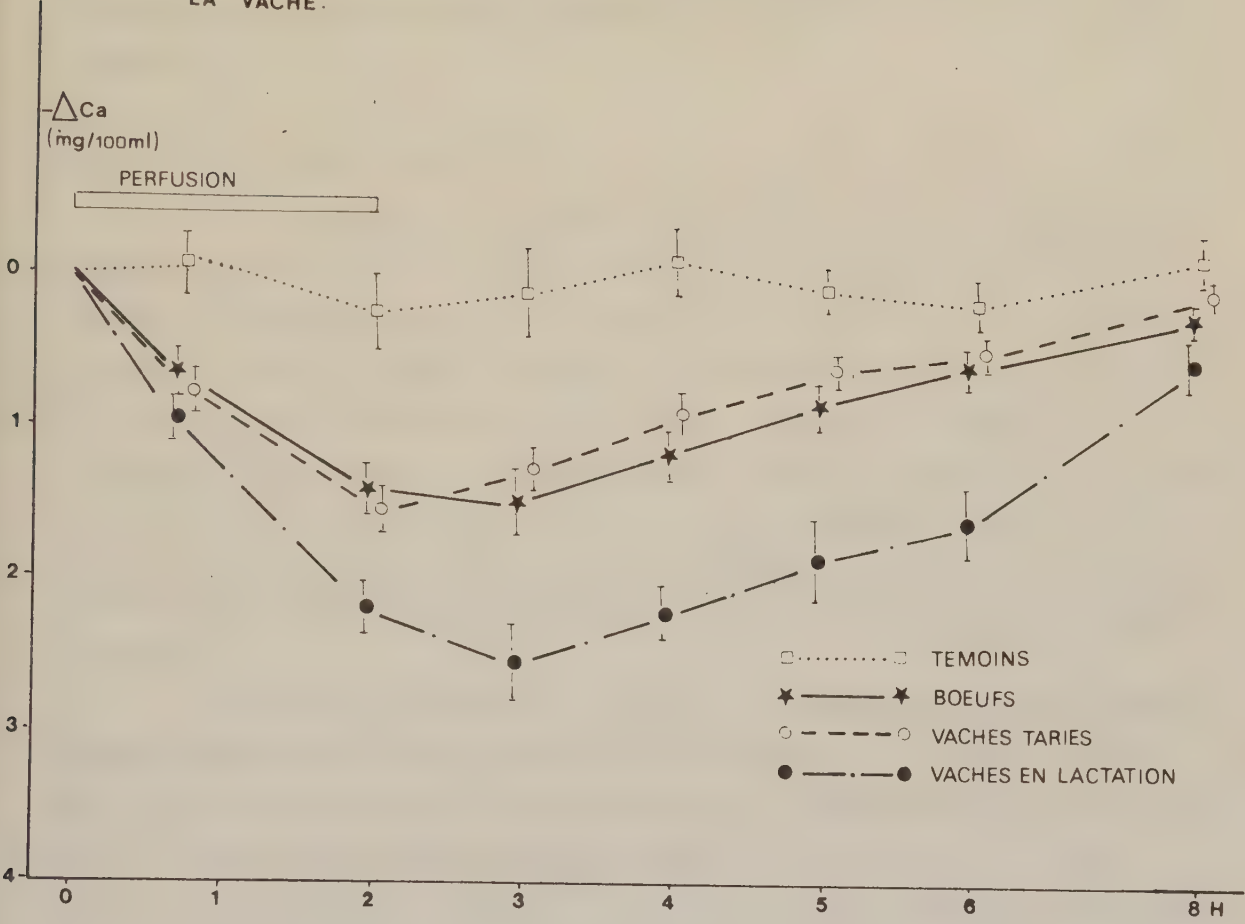
L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par la calcitonine chez la vache en lactation ne semblent pas être modifiées le

TABIEAU 10 : EFFET DE LA CALCITONINE SUR LA PHOSPHATEMIE DU BOEUF ET DE LA VACHE (AP en mg/100 ml)

Temps (h)	1	2	3	4	5	6	8
Animaux							
Témoins (3)	0,2 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,3
Boeufs (3)	0,5 ± 0,2	2,0 ± 0,3	2,4 ± 0,2	1,4 ± 0,4	0,7 ± 0,3	0,3 ± 0,4	0,1 ± 0,5
Vaches tarées (3)	0,6 ± 0,3	2,3 ± 0,4	2,6 ± 0,4	1,4 ± 0,2	1,0 ± 0,4	0,8 ± 0,3	0,4 ± 0,2
Vaches en lactation (3)	0,9 ± 0,2	3,0 ± 0,5	3,0 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,6	0,8 ± 0,1

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux utilisés.

FIGURE 7 : EFFETS DE LA CALCITONINE SUR LA CALCÉMIE DU BOEUF & DE LA VACHE.



jour de l'oestrus (figure 8).

Par contre chez 2 vaches perfusées 12 h après le vêlage, l'hypocalcémie obtenue est beaucoup moins accentuée que celle induite par la même dose de calcitonine chez les mêmes animaux, 40 jours plus tard. 12 h après le vêlage la légère hypocalcémie induite n'est pas significative, alors que 40 jours plus tard une hypocalcémie hautement significative ($P < 0,01$) persiste jusqu'à 3 h après la fin de la perfusion (figure 9).

Discussion et conclusions :

La calcitonine a un effet hypocalcémiant significativement accru et prolongé chez la vache en lactation par rapport à la vache tarie. La calcitonine agit en bloquant le catabolisme osseux (MILHAUD et col., 1965). A l'heure actuelle le catabolisme osseux n'a jamais pu être mesuré avec précision chez la vache ; cependant il semble plus intense chez la vache en lactation depuis plus de 2 semaines ($Vo_2 = 18,4$ g/j) que chez la vache tarie ($Vo_2 = 4,3$ g/j) (RAMBERG et col., 1970). Il est donc logique de penser que la différence observée provient d'une différence de l'intensité du catabolisme osseux entre les deux groupes d'animaux.

En ce qui concerne les boeufs, la castration pourrait inhiber partiellement l'effet hypocalcémiant de l'hormone. En effet, chez le Rat, la calcitonine induit une hypocalcémie significativement plus intense chez le mâle pseudo-opéré que chez le mâle castré, et le pro-pionate de testostérone administré au mâle normal ou castré potentialise de façon significative l'effet hypocalcémiant de l'hormone (OGATA et col., 1970).

De même, chez la ratte normale ou ovariectomisée, le benzoate d'oestradiol et la calcitonine paraissent agir en synergie pour abaisser la calcémie de l'animal (PHILLIPPO et HINDE, 1968). Cependant, chez la Vache, l'administration d'oestrogène ou de progestérone, ou d'une association d'oestrogène et de progestérone, ne modifie pas la résorption osseuse (MUIR et col., 1970). C'est probablement la raison pour laquelle l'hypocalcémie induite par la calcitonine chez la Vache ne semble pas différente le jour de l'oestrus ou 11 jours plus tard. De plus, chez la Ratte, la réponse à la calcitonine n'est pas significativement différente le jour de l'oestrus (HINDE et PHILLIPPO, 1968). La synergie calcitonine-oestrogène pourrait donc être un effet pharmacologique mais non physiologique.

L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par la calcitonine chez la vache en lactation ne semblent pas être influencées par l'oestrus (figure 8). En revanche chez deux vaches perfusées 12 h après le vêlage l'hypocalcémie est beaucoup moins accentuée que celle induite par la même dose de calcitonine chez les deux mêmes animaux 40 jours plus tard. 12 h après le vêlage l'hypocalcémie induite n'est significative qu'à la fin de la perfusion ($P < 0,05$) alors que 40 jours plus tard une hypocalcémie hautement significative persiste jusqu'à 3 h après la fin de la perfusion (figure 9). Contrairement à ce que l'on pourrait penser, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine exogène est très réduit dans les heures suivant la parturition chez la Vache. Ce résultat confirme les observations de RAMBERG qui n'a pas obtenu d'hypocalcémie chez deux vaches auxquelles la calcitonine avait été administrée successivement 2 jours avant et 4 jours après le vêlage (MAYER, 1970). Plusieurs explications sont possibles :

1°) La calcémie de nos deux animaux était respectivement de 8,6 et 8,7 12 h après la parturition au lieu de 9,8 et 9,9 mg/100 ml 40 jours plus tard. Or Δ Ca est proportionnel à la calcémie (MILHAUD, 1968). D'ailleurs à la fin de la perfusion la calcémie de l'animal qui était initialement de 8,7 s'est abaissée de 0,62 mg/100 ml alors que celle de l'autre vache (initialement de 8,0 mg/100 ml) s'est abaissée seulement de 0,48 mg/100 ml. Des résultats analogues ont été obtenus chez le Rat (BELL et STERN, 1970).

2°) L'hypersécrétion de parathormone mise en évidence chez la vache parturiente (MAYER et col., 1969), pourrait éventuellement inhiber l'action hypocalcémiante de la calcitonine exogène (MILHAUD et MOUKHAR, 1966).

3°) L'hypersécrétion de calcitonine qui se manifeste également chez la vache parturiente (BARLET, 1969a) pourrait avoir déjà bloqué presque totalement le catabolisme osseux, ce qui expliquerait le peu d'effet de l'hormone exogène.

Il est d'ailleurs également possible que plusieurs de ces éventualités interviennent simultanément.

C - INFLUENCE DU JEÛNE HYDRIQUE

La calcitonine agissant en bloquant le catabolisme osseux (MILHAUD et col., 1965), son effet hypocalcémiant devrait être plus intense chez l'animal à jeun, du fait d'un catabolisme osseux accru

FIGURE 8 : INFLUENCE DE L'OESTRUS SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT & HYPOPHOSPHATEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ LA VACHE EN LACTATION .

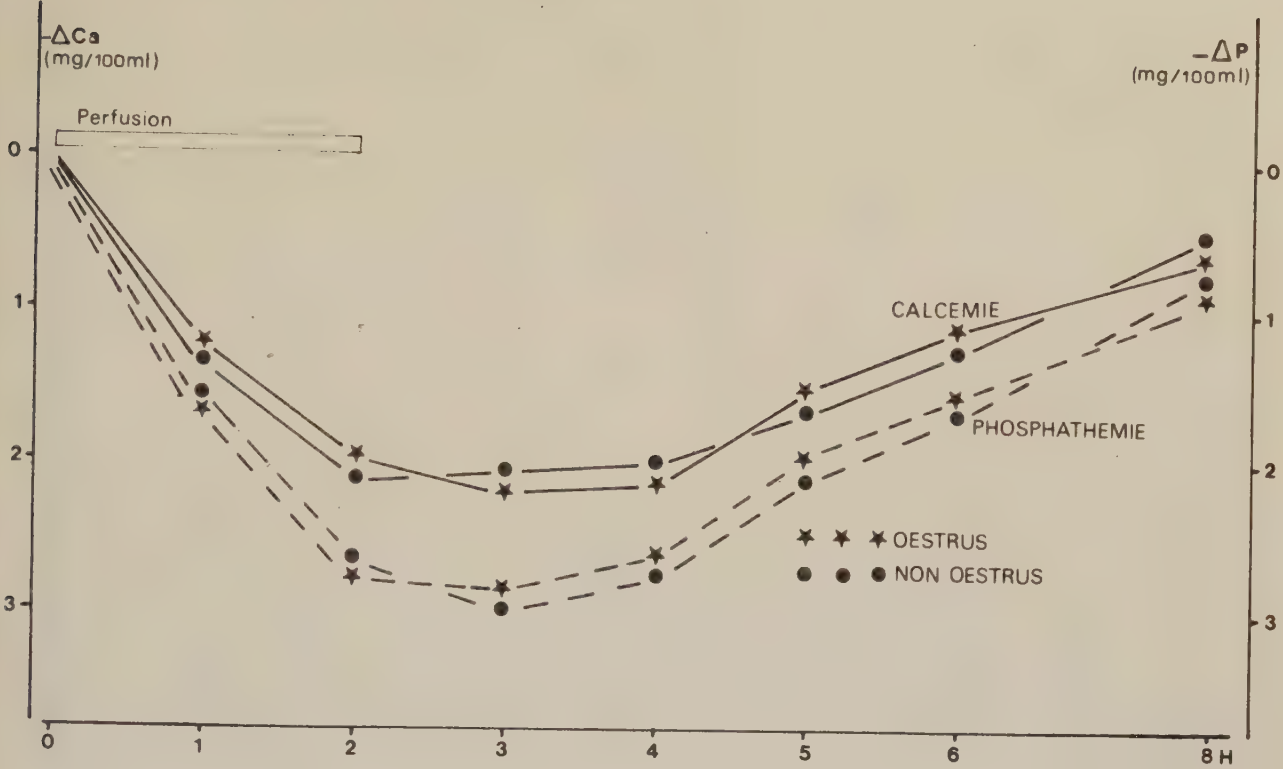


FIGURE 9 : INFLUENCE DE LA PARTURITION SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ DEUX VACHES .

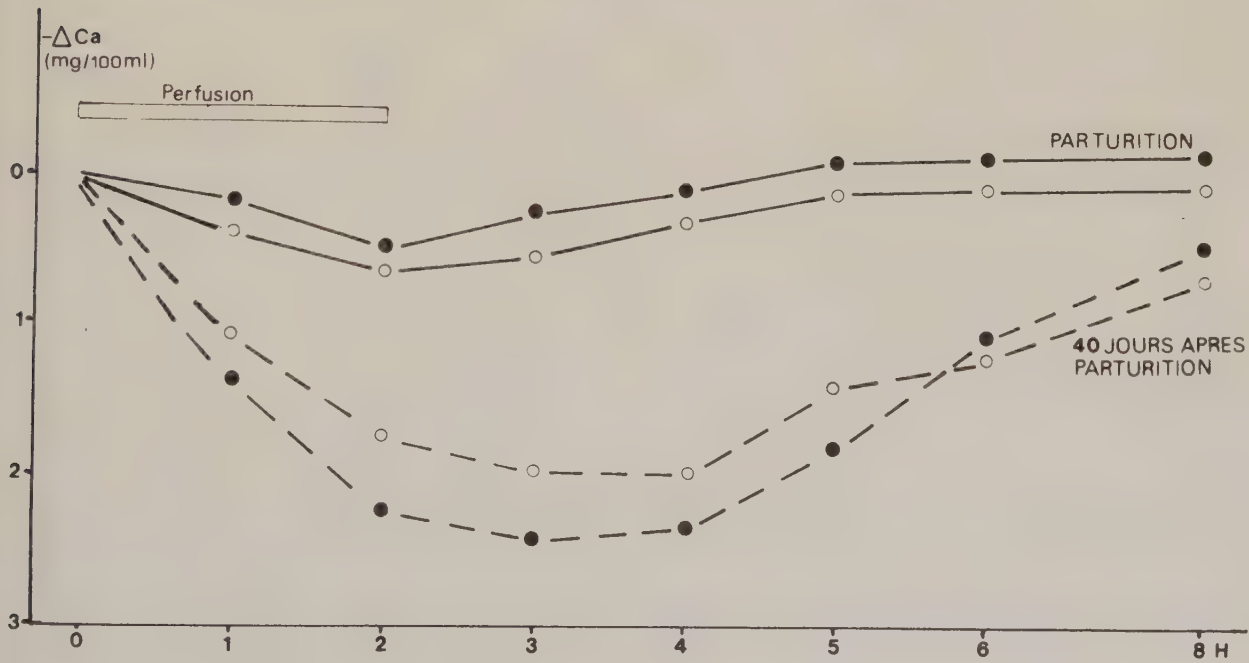
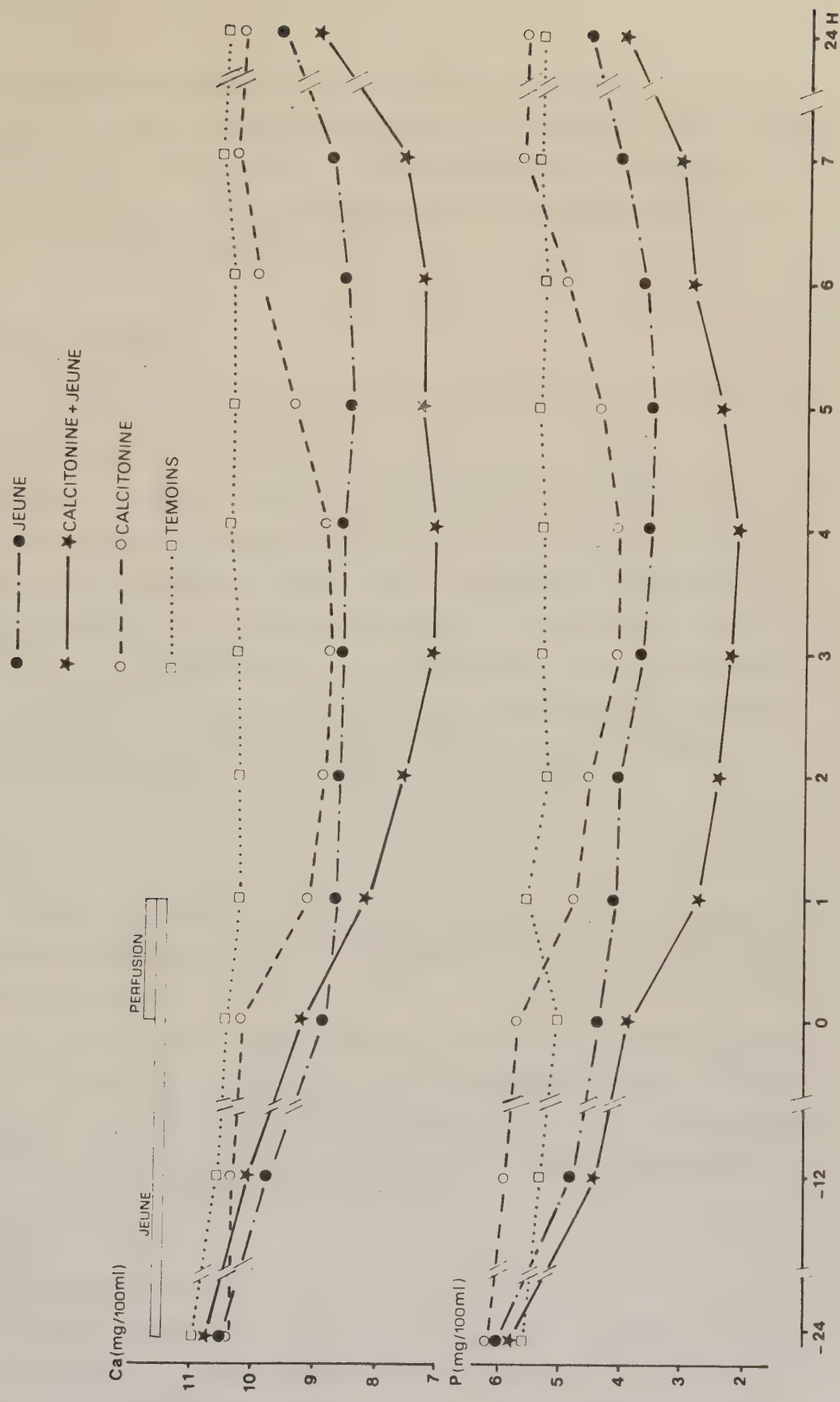


FIGURE 10 : INFLUENCE DU JEUNE SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT ET HYPOPHOSPHATEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ LA VACHE .



consécutivement à la réduction de l'absorption calcique intestinale. Si cela a été prouvé chez le Rat (SCHLUETER et CALDWELL, 1967 ; HIRSCH et COOPER, 1968 ; MORII et col., 1970) aucun résultat concernant l'action du jeûne sur la réponse des bovins à l'administration de calcitonine n'a été fourni jusqu'à présent.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 4 vaches Frisonnes de 3 ans pesant 460 ± 23 kg, en lactation depuis 6 mois.

1 animal a reçu en 1 h une perfusion intraveineuse de calcitonine porcine purifiée (ARMOUR, 65 U/mg) dissoute dans 200 ml de tampon acétate de soude, à pH = 4.6, contenant 0,1 % d'albumine bovine. Le deuxième animal a reçu, de la même façon, la même dose de calcitonine après un jeûne de 24 h. Le troisième animal a été uniquement soumis au jeûne de 24 h ; le quatrième, utilisé comme témoin, sans jeûne préalable, a reçu le même volume de solvant que les deux premiers animaux. Les prélèvements de sang sont effectués aux temps, 14 h, 12 h, 0 (début de la perfusion), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 24 h.

Résultats :

Chez 2 vaches, le jeûne durant 24 h a abaissé la calcémie des animaux de respectivement 1,8 et 1,4 mg/100 ml et leur phosphatémie de 2,8 et 2,5 mg/100 ml.

La calcitonine administrée à la vache à jeun abaisse la calcémie de cet animal de 2,4 mg/100 ml et sa phosphatémie de 3,2 mg/100 ml, alors que chez l'animal alimenté normalement avant l'administration de l'hormone calcémie et phosphatémie sont abaissées respectivement de seulement 1,3 et 2,2 mg/100 ml (figure 10).

Discussion et conclusions :

Notre expérimentation n'a porté que sur 4 animaux. De plus, pour des Ruminants, un jeûne de 24 h est un jeûne de courte durée. Il est donc impossible de tirer des conclusions définitives. Cependant l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie observée chez les animaux à jeun depuis 24 h confirme les résultats analogues précédemment obtenus chez la Vache (HALSE, 1958 ; HERD, 1966) et chez le Mouton (WILLIAMS et CHRISTIAN, 1959).

Le jeûne semble potentialiser l'action hypocalcémiant et hypophosphatémiant de la calcitonine chez la Vache. Ceci résulte

probablement de l'accroissement du catabolisme osseux dû à l'absorption calcique réduite par la mise à jeun de l'animal. En effet, l'hypocalcémie induite par la calcitonine est intense chez la vache auxquelles l'alimentation n'apporte que 3 g de calcium par jour, alors qu'elle est pratiquement nulle chez des animaux analogues recevant quotidiennement 78 g de calcium (MAYER, 1970).

D - INFLUENCE DE LA THYROIDECTOMIE

Chez le Rat, la thyroxine potentialise l'hypocalcémie induite par la calcitonine (MILHAUD, LI TSIEN MING et MOUKHTAR, 1967). Contrairement à cela, la thyroïdectomie (après transplantation des parathyroïdes) paraît augmenter significativement la réponse du Rat à la calcitonine thyroïdienne ou ultimobranchiale (TALMAGE et KENNEDY, 1969).

Nous avons donc essayé de voir quelle pouvait être l'influence de la thyroïdectomie sur la réponse de la Vache à l'administration de calcitonine.

Matériel et méthodes :

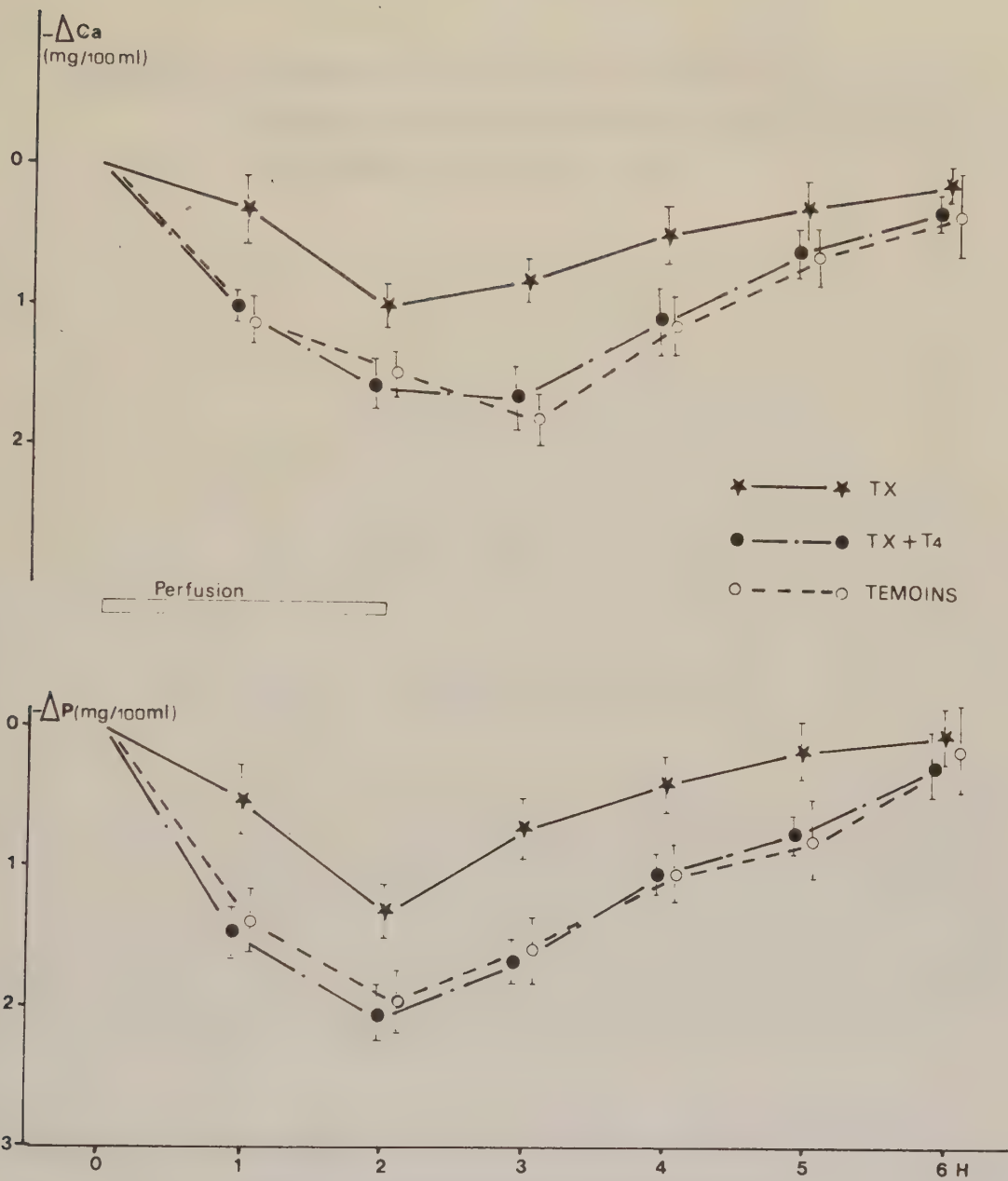
6 vaches Jersiaises, tarées, ni gestantes ni en lactation (donc ayant des besoins phospho-calciques réduits), pesant 279 ± 11 kg ont été utilisées.

3 animaux normaux et 3 animaux thyroïdectomisés depuis 3 semaines ont reçu en 2 h une perfusion intraveineuse de calcitonine porcine purifiée (ARMOUR 65 U/mg) (0,5 U M.R.C./kg), dissoute dans 300 ml du tampon habituel additionné d'albumine. 24 h après cette perfusion, les 3 animaux thyroïdectomisés ont été supplémentés en thyroxine (thyroxine ROCHE) ($10 \mu\text{g/kg/j}$ pendant 7 jours) par voie intramusculaire. Le 7ème jour ils ont reçu une perfusion de calcitonine analogue à la précédente. Tous les animaux étaient mis à jeun pendant 24 h avant chaque perfusion.

Résultats :

3 semaines après la thyroïdectomie, la calcémie des animaux n'est pas significativement modifiée ($t = 0,41$, pour 4 D.L., pour $P \leq 0,05$ $t = 2,276$). La phosphatémie est légèrement abaissée, mais de façon non significative ($t = 2,132$). La magnésémie n'est pas significativement augmentée ($t = 1,976$) (tableau 11). L'administration

FIGURE 11: ACTION HYPOCALCEMIANTE ET HYPOPHOSPHATEMIANTE DE LA CALCITONINE CHEZ LA VACHE THYROIDECTOMISEE SUPPLEMENTEE OU NON EN T4.



de thyroxine pendant 7 jours ne modifie pas de façon significative la calcémie par rapport à sa valeur initiale ($t = 0,673$) ou après thyroïdectomie ($t = 0,474$) ; il en est de même pour la phosphatémie ($t = 0,780$; $t = 1,109$) et la magnésiémie ($t = 0,987$; $t = 1,223$) (tableau 11).

TABEAU 11 : CALCÉMIE, PHOSPHATÉMIE ET MAGNÉSÉMIE DES ANIMAUX NORMAUX (N), THYROIDECTOMISÉS (TX) ET THYROIDECTOMISÉS SUPPLÉMENTÉS EN T_4 (TX + T_4)

(Animaux	:	N	:	TX	:	TX + T_4	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(-----)	:	:	:	:	:	:	)
(Ca	:	9,94 ± 0,18	:	9,78 ± 0,13	:	9,80 ± 0,10	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(-----)	:	:	:	:	:	:	)
(P	:	6,24 ± 0,21	:	5,90 ± 0,29	:	6,20 ± 0,17	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(-----)	:	:	:	:	:	:	)
(Mg	:	2,08 ± 0,09	:	2,14 ± 0,10	:	1,95 ± 0,08	)
(	:	:	:	:	:	:	)
(-----)	:	:	:	:	:	:	)

Les résultats sont exprimés en mg/100 ml.

Chez la vache thyroïdectomisée, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par la calcitonine sont significatives seulement à la fin de la perfusion ($P < 0,01$). Chez la vache normale ou thyroïdectomisée et supplémentée en T_4 une hypocalcémie et une hypophosphatémie significative ($P < 0,01$) apparaissent dès 1 h après le début de la perfusion et persistent 2 h après la fin de celle-ci (figure 11).

Discussion et conclusions :
.....

Chez la Vache, la calcémie, la phosphatémie et la magnésiémie ne sont pas modifiées de façon significative par la thyroïdectomie. Cependant chez la brebis thyroïdectomisée depuis 2 mois on observe une élévation significative de la phosphatémie et de la magnésiémie (INSKEEP et KENNY, 1968). Il semble qu'il faille un délai de plus de 3 semaines pour que ces modifications plasmatiques apparaissent chez le Ruminant puisque d'autres auteurs, ne constatent pas non plus d'effet significatif de la thyroïdectomie sur la calcémie et la magnésiémie du Mouton (CARE, 1969) ni sur la calcémie, la phosphatémie et la magnésiémie

de la Chèvre (PAYNE et CHAMINGS, 1964).

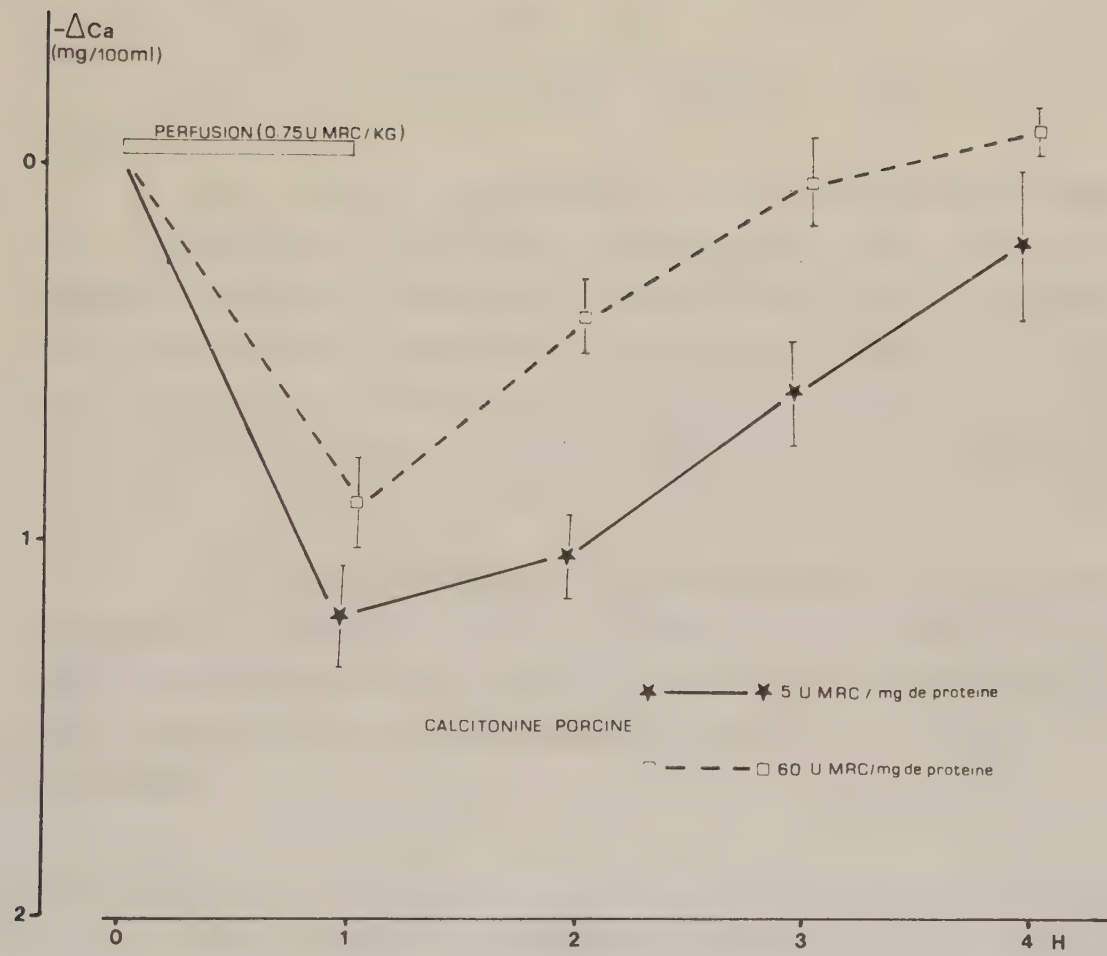
La thyroxine (20 μ g/100 g/j) est hyperphosphatémiant chez le rat thyroïdectomisé (MILHAUD, LI TSIEN MING et MOUKHTAR, 1967). Nous n'avons pas retrouvé cet effet chez la Vache. Mais la dose journalière que nous utilisons est 20 fois plus faible et, de plus, nos animaux thyroïdectomisés ont les parathyroïdes supérieures fonctionnelles, donc vraisemblablement capables d'inhiber l'hyperphosphatémie induite par la thyroxine.

Une diminution du taux de phosphate ou de magnésium du milieu de culture inhibe la résorption osseuse in vitro (RAISZ et NIEMANN, 1969 ; MAC MANUS et HEATON, 1970). Il semble qu'il y ait effectivement diminution de l'intensité du catabolisme osseux chez les animaux thyroïdectomisés puisque l'effet hypocalcémiant de la calcitonine est significativement inhibé chez ceux-ci. Or s'il y a diminution du catabolisme osseux chez ces animaux, elle ne peut pas résulter d'une hypophosphatémie ou d'une hypomagnésiémie (tableau 11). Comme l'administration de T_4 suffit pour supprimer la différence de réponse entre les animaux normaux et thyroïdectomisés, il est logique de penser que la thyroïdectomie, en supprimant la sécrétion de T_4 , ralentit le "turn-over" osseux, ce qui diminue l'effet hypocalcémiant de la calcitonine. En effet, chez le rat carencé en iode, on observe un effondrement du catabolisme osseux, (COLLIGNON et col., 1970), et chez le rat thyroïdectomisé, la supplémentation en T_4 suffit pour rétablir une réponse normale à la calcitonine (MOURA, 1970).

E - INFLUENCE DU DEGRE DE PURIFICATION ET DE L'ORIGINE DE LA CALCITONINE

Les thyroïdes de Porc ont une teneur en collagène inférieure à celle des thyroïdes bovines ce qui facilite leur broyage. Elles renferment des quantités importantes de calcitonine (20 - 30 U M.R.C./glande). Aussi, pour la préparation de la calcitonine au laboratoire, nous avons la plupart du temps utilisé des thyroïdes porcines. Néanmoins la démonstration du rôle éventuel de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phosphocalcique de la vache laitière, impliquerait de vérifier l'action hypocalcémiant et hypophosphatémiant de l'hormone bovine chez cet animal. De plus il était intéressant de voir si, chez les Bovins, le degré de purification de l'hormone pouvait influencer son effet hypocalcémiant et si la calcitonine ultimobranchiale avait un effet analogue à celui de la calcitonine thyroïdienne.

FIGURE 12 : INFLUENCE DU DEGRE DE PURIFICATION SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ LA VACHE.



Matériel et méthodes :

.....
12 vaches Jersiaises de 6 ans, pesant 280 ± 9 kg, au cours de leur quatrième lactation, ont été utilisées.

Toutes les perfusions ont été administrées en 1 h; chaque animal recevait une dose de calcitonine de 0,75 U M.R.C./kg de poids vif. 3 animaux ont reçu de la calcitonine porcine purifiée ARMOUR (60 U/mg), 3 de la calcitonine porcine purifiée au laboratoire (5 U/mg), 3 de la calcitonine bovine préparée au laboratoire (5 U/mg), 3 de la calcitonine de Saumon (don de D.H. COPP) (930 U/mg).

La calcitonine de Saumon étant généralement utilisée après avoir été dissoute dans un tampon acétate de soude à pH = 4.6, contenant 1 % de glycine (D.H. COPP, communication personnelle), les autres calcitonines ont été dissoutes dans le même volume (100 ml) du même tampon.

Pour tester la dégradation de ces différentes préparations par le plasma bovin, 20 ml d'une solution tampon acétate des 4 préparations précédentes, renfermant chacune 80 mU/ml, ont été incubées dans 20 ml de plasma d'une génisse Jersiaise de 18 mois n'ayant jamais reçu d'injection de calcitonine. L'incubation a été effectuée pendant 2 h à 38.5°C (température corporelle normale des Bovins). L'effet hypocalcémiant de chacune des différentes préparations avant et après incubation a été testé sur Rats.

Pour chaque préparation, 6 rats Sherman ♂, de 40 g, à jeun depuis 16 h, recevaient par la veine saphène 1 ml de la préparation normale (diluée de moitié soit 40 mU) et 1 ml de la solution incubée. 6 rats témoins ont reçu 1 ml de plasma de la génisse et 6 autres 1 ml de tampon.

Résultats :

.....
Chez la vache en lactation, l'injection en 1 h de 0,75 U/kg de poids vif de calcitonine porcine purifiée (60 U/mg) induit une hypocalcémie significative à la fin de la perfusion (pour 4 D.L., $t = 4,820$, pour $P \leq 0,01$, $t = 4,604$) et 1 h plus tard (pour 4 D.L., $t = 2,785$, pour $P \leq 0,05$, $t = 2,776$). L'injection, pendant le même temps, de la même dose de calcitonine porcine provenant d'une préparation peu purifiée (5 U/mg) produit un effet hypocalcémiant dont l'intensité n'est pas significativement différente de celle obtenue avec la préparation précédente (pour 4 D.L., $t = 0,984$), mais qui persiste pendant 2 h après la fin de la perfusion (pour 4.D.L., $t = 2,847$) (figure 12). Il n'apparaît

pas de différence significative entre l'intensité et la durée des effets hypocalcémiant et hypophosphatémiant obtenus avec la même dose de calcitonine porcine ou bovine ayant le même degré de purification (5 U/mg). Par contre l'effet hypocalcémiant et hypophosphatémiant d'une préparation de calcitonine de Saumon beaucoup mieux purifiée (930 U/mg) est plus prolongé : il persiste de façon significative ($P < 0,01$) jusqu'à 9 h après la fin de la perfusion (figure 13).

L'effet hypocalcémiant de la calcitonine porcine dosée à 5 U/mg est inhibé partiellement mais significativement (pour 10 D.L., $t = 5,040$, pour $P \leq 0,01$, $t = 3,169$) par l'incubation dans le plasma bovin. Il en est de même pour la calcitonine bovine (pour 10 D.L., $t = 5,624$). Il n'y a pas de différence significative entre le degré d'inhibition de ces deux préparations (pour 10 D.L., $t = 0,624$). Par contre l'effet hypocalcémiant de la calcitonine porcine mieux purifiée est davantage inhibé, et ce de façon hautement significative (pour 10 D.L., $t = 4,028$), alors que celui de la calcitonine de saumon l'est moins, de façon hautement significative (pour 10 D.L., $t = 4,329$) (tableau 12 et figure 14).

TABEAU 12 : POURCENTAGE D'INHIBITION DE DIFFERENTES CALCITONINES PAR LE PLASMA BOVIN.

CALCITONINE	PORCINE	BOVINE	SAUMON	
Pureté (U/mg)	60	5	930	
Activité hypocalcémiant après incubation *	45,58 ± 3,24	69,05 ± 2,20	65,86 ± 3,80	79,19 ± 1,20
Pourcentage d'inhibition	54,42 ± 1,67	30,95 ± 0,96	34,14 ± 1,28	20,81 ± 0,42

* % de l'activité hypocalcémiant initiale.

Discussion et conclusions :

Chez la Vache, la durée de l'effet hypocalcémiant de la calcitonine porcine paraît d'autant plus prolongé que l'hormone est moins purifiée. Ceci semble pouvoir s'expliquer par le fait que l'hormone porcine

FIGURE 13 : EFFET HYPOCALCEMIANT ET HYPOPHOSPHATEMIANT DE LA CALCITONINE BOVINE, PORCINE ET DE SAUMON CHEZ LA VACHE.

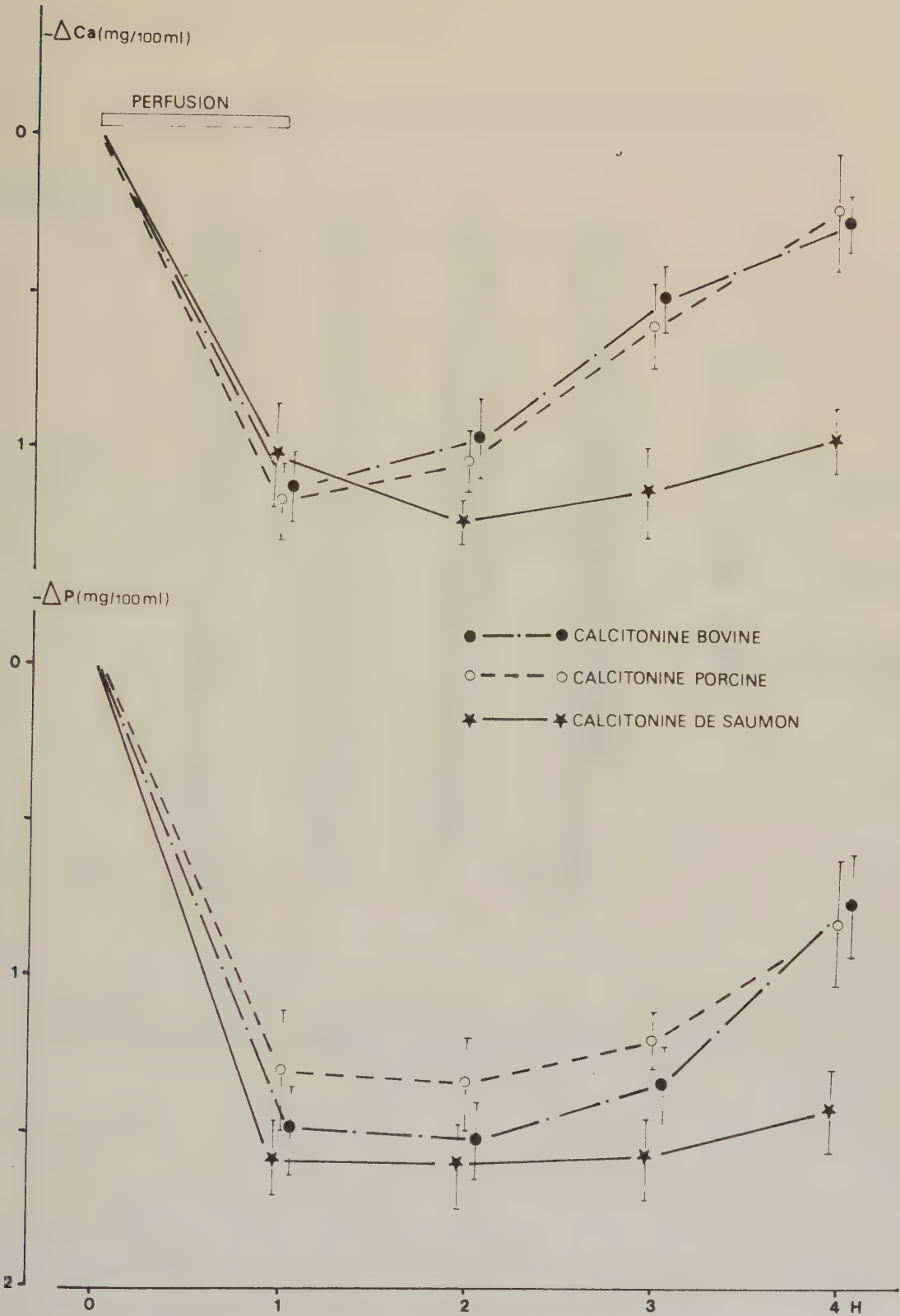
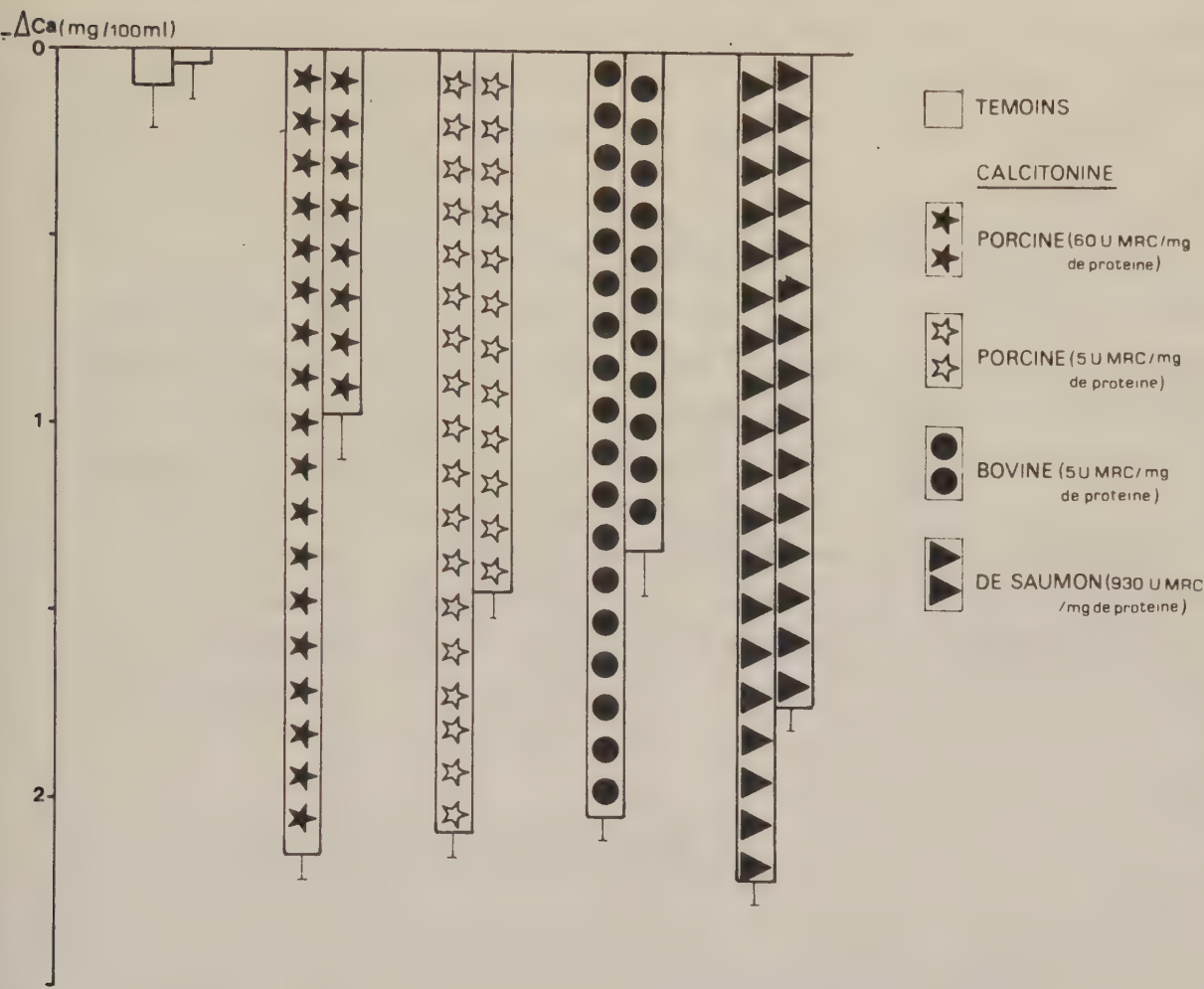


FIGURE 14 : INHIBITION DE L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE DIFFERENTES CALCITONINES
PAR LE PLASMA BOVIN .



Les colonnes de gauche et de droite representent respectivement l'hypocalcemie observee avant et apres incubation de la calcitonine dans le plasma bovin

est d'autant plus inactivée par le plasma bovin qu'elle est plus pure.

Cependant la calcitonine de Saumon, mieux purifiée que la calcitonine porcine préparée au laboratoire, possède un effet hypocalcémiant significativement plus prolongé que celle-ci, et elle est moins rapidement inhibée au cours de l'incubation que la calcitonine porcine. D'ailleurs, la calcitonine porcine synthétique est beaucoup plus rapidement inactivée que la calcitonine humaine synthétique par incubation dans le plasma (de Lapin ou de Rat), alors qu'elles sont l'une et l'autre rigoureusement pures (MAIER et col., 1970). Le degré de purification n'est pas l'unique facteur intervenant dans l'inhibition subie au cours de l'incubation plasmatique.

Les Bovins ne sont d'ailleurs pas les seuls mammifères chez qui la calcitonine ultimobranchiale (de Saumon) a un effet hypocalcémiant dont la durée soit significativement supérieure à celle de la calcitonine porcine : il en est ainsi chez le Lapin (COPP et col., 1970), le Rat (MILHAUD et col., 1970) et l'Homme (NEER et col., 1970). La prolongation de l'effet hypocalcémiant chez la Vache pourrait être due à une inhibition plasmatique très faible (figure 13).

L'effet hypocalcémiant et hypophosphatémiant significatif de la calcitonine bovine chez la Vache est un argument en faveur du rôle de la calcitonine dans la régulation du métabolisme phospho-calcique de cette espèce.

F - INFLUENCE DU MODE D'ADMINISTRATION

L'activité hypocalcémiante de la calcitonine exogène étant rapidement inhibée par le plasma bovin, il semble donc préférable d'administrer l'hormone par perfusion lente et prolongée plutôt que par injection rapide, afin d'obtenir une baisse maximum de la calcémie. Nous avons voulu vérifier cette hypothèse chez les Bovins.

Matériel et méthodes :

6 vaches Jersiaises de 36 mois, pesant 260 ± 3 kg, en lactation depuis 6 mois ont été utilisées pour cette expérimentation. Tous les animaux ont été mis à jeun 16 h avant le début de l'administration de l'hormone. Ils ont tous reçu 20 U de calcitonine porcine préparée au laboratoire (1 U/mg), dissoutes dans 100 ml de tampon acétate de soude à pH = 4.6. 3 animaux ont reçu cette dose par une injection

intraveineuse rapide (4 mn), les 3 autres l'ont reçu par perfusion intraveineuse de 4 h (25 ml/h).

Résultats :
.....

L'effet hypocalcémiant de 20 U de calcitonine porcine injectées en 4 mn n'est significatif que 30 mn (pour 4 D.L., $t = 3,119$; pour $P \leq 0,01$, $t = 4,604$).

L'effet hypocalcémiant des 20 U administrées en 4 h est significativement plus accentué (pour 4 D.L., $t = 5,920$) et plus prolongé : une hypocalcémie significative persiste 3 h après la fin de la perfusion (pour 4 D.L., $t = 3,287$) (Figure 15).

Discussion et conclusions :
.....

La même dose de calcitonine administrée à des vaches analogues, en 4 h ou en 4 mn, produit une hypocalcémie beaucoup plus intense ($-\Delta \text{Ca} = 1,98 \pm 0,14$ au lieu de $-1,20 \pm 0,10$ mg/100 ml) et beaucoup plus prolongée (7 h au lieu de 1 h) dans le premier cas.

Cette différence peut résulter de plusieurs facteurs :

1°) La calcitonine administrée lentement est dégradée moins rapidement au sein du plasma, donc peut avoir un effet plus prolongé.

2°) La calcitonine agit en bloquant le catabolisme osseux. Si la dose d'hormone perfusée pendant l'unité de temps est suffisante pour bloquer le catabolisme osseux pendant ce même temps, plus la durée de blocage sera longue, plus l'hypocalcémie résultante sera accentuée.

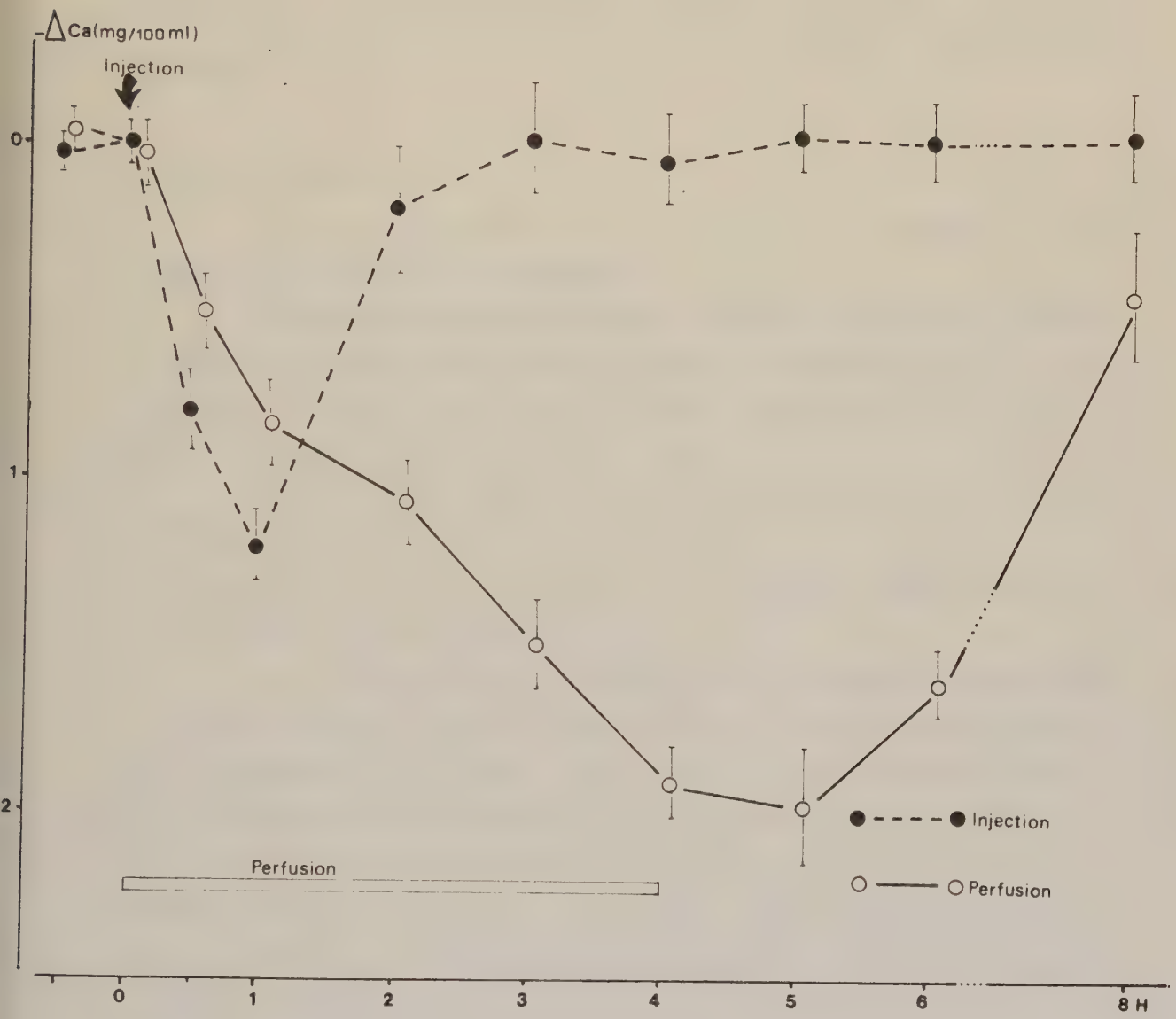
Ces observations ne paraissent pas être uniquement valables dans le cas des Bovins. En effet, chez la Poule, l'administration de 30 U/kg de calcitonine en injection intraveineuse rapide n'a aucun effet significatif sur la calcémie (BARLET et CALAMY, Données non publiées). Par contre la même dose administrée en 2 h induit une hypocalcémie significative (CALAMY et BARLET, 1970).

L'induction d'une hypocalcémie très intense par l'administration de calcitonine aux Bovins semble donc impliquer la nécessité de procéder à des perfusions intraveineuses prolongées.

G - INFLUENCE DE LA REPETITION DES INJECTIONS CHEZ LE MEME ANIMAL

En essayant d'induire une hypocalcémie et une hypophosphatémie très intenses par perfusion intraveineuse pendant 4 h de 40 U de

FIGURE 15: INFLUENCE DE LA DUREE D'ADMINISTRATION SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ LA VACHE.



calcitonine porcine chez 2 vaches en lactation qui avaient reçu, toutes les 2, 4 et 6 mois auparavant 2 injections de 20 U de la même calcitonine, nous nous étions aperçus que l'abaissement de la calcémie ne dépassait pas 10 %, alors qu'il était de l'ordre de 20 % lors des perfusions précédentes où les animaux étaient taris. Il semblait donc que ces vaches présentaient une résistance acquise à l'hormone. Nous avons donc cherché si les animaux préalablement traités possédaient un facteur anti-calcitonine porcine, anti-calcitonine bovine exogène et éventuellement endogène.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 14 vaches Jersiaises de 36 mois, à divers stades de lactation et de gestation.

7 traitées avaient déjà reçu 2 administrations de calcitonine porcine (1 U/mg), dont l'une sous forme de perfusion de 20 U, 6 mois auparavant (BARLET, 1967a). Les 7 témoins n'avaient jamais reçu d'injection de calcitonine.

Nous avons également disposé de 8 veaux âgés de 5 à 50 jours, 4 issus des traitées et 4 nés des témoins.

- Mise en évidence d'un facteur anti-calcitonine porcine et anti-calcitonine bovine exogène :

Nous avons utilisé la technique de TASHJIAN et MUNSON (1965). L'extrait thyroïdien porcin ou bovin utilisé renferme respectivement 30 et 20 mU/ml. 5 ml de sérum d'un traité, 5 ml de sérum d'un témoin et 5 ml de sérum physiologique sont chauffés séparément pendant 20 mn à 60°C pour détruire le facteur anticalcitonine présent dans tous les sérums (TASHJIAN et VOELKEL, 1968). Après refroidissement pendant 10 mn à la température ambiante, on ajoute à chaque prélèvement 5 ml de calcitonine porcine ou bovine. Les 3 solutions sont ensuite incubées pendant 1 h à 38°C puis pendant 18 h à 4°C.

Le dosage biologique de l'activité hypocalcémiante dans les 3 solutions est fait de façon classique (cf Techniques générales).

- Mise en évidence d'un facteur anti-calcitonine endogène :

Nous avons utilisé une technique fréquemment employée chez l'Homme pour mettre en évidence un déficit en calcitonine endogène (FUJITA et col., 1967 ; KLOTZ, 1967). Elle consiste à mesurer l'hypercalcémie consécutive à une perfusion calcique intraveineuse et le temps de retour à la calcémie initiale.

7 vaches (4 traitées et 3 témoins) ont reçu en 1 h, par perfusion jugulaire, 30 mg de calcium par kg de poids vif, sous forme d'une solution de glutamate à ce calcium à 216 g/l. Cette dose ayant provoqué des symptômes alarmants (essoufflement, tachycardie), les 7 autres animaux (3 traités et 4 témoins) ont reçu de la même façon, 13 mg de calcium seulement par kg de poids vif, sous forme d'une solution de glutamate à 108 g/l.

Le sang est recueilli au début et à la fin de la perfusion, puis toutes les 30 mn pendant 4 h et ensuite toutes les 60 mn pendant 6 h. Pour chaque animal nous avons tracé la courbe de décroissance de la calcémie en fonction du temps, courbe à partir de laquelle nous avons obtenu le temps de retour à la calcémie initiale.

Résultats :

Le sérum des vaches traitées inhibe intensément de façon hautement significative l'activité hypocalcémiante de la calcitonine porcine et de la calcitonine bovine exogène (tableau 13).

Chez les 7 traitées, le taux d'inhibition de la calcitonine bovine exogène varie dans le même sens que celui de la calcitonine porcine ($r = + 0,760$, pour $P \leq 0,05$, $r = 0,754$).

Le sérum des 4 veaux, issus des vaches traitées, et ayant reçu du colostrum, inhibe, comme sérum maternel, l'activité hypocalcémiante de la calcitonine porcine et bovine exogène. Le sérum des 4 veaux issus des vaches témoins n'a pas d'effet significatif sur l'effet hypocalcémiant de ces préparations (tableau 14).

A la suite de la perfusion de glutamate de calcium les témoins reviennent à leur calcémie initiale plus rapidement que les traitées, de façon hautement significative (tableau 15).

Discussion et conclusions :

Les résultats précédents démontrent l'apparition dans le sang des vaches traitées à la calcitonine porcine, d'un facteur résistant à 60°C qui neutralise l'action de cette même hormone. Il apparaît en même temps un facteur anti-calcitonine bovine exogène, qui semble bien être le même, puisque le pouvoir neutralisant du sérum de vaches vis à vis des deux hormones varient dans le même sens. Des phénomènes de résistance analogues ont été rapportés chez le Chien (CHAUSMER, MITTLEMAN et WALLACH, 1966) et chez le Lapin. Chez celui-ci, un traitement à la calcitonine porcine induit aussi une résistance vis à vis

	SERUM PHYSIOLOGIQUE	SERUM DES TEMOINS	SERUM DES TRAITEES
	+ CTP	+ CTP	+ CTP
	+ CTB	+ CTB	+ CTB
- Δ Ca	2,03 ± 0,02	1,96 ± 0,18	0,74 ± 0,08
(mg/100 ml)	1,08 ± 0,04	1,00 ± 0,05	0,49 ± 0,05
Signification		t = 0,732	t = 4,927
statistique		N.S.	P < 0,005

TABEAU 14 : INHIBITION DE L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE PORCINE OU BOVINE
EXOGENE PAR LE SERUM DES VEAUX ISSUS DES VACHES TRAITEES

	SERUM PHYSIOLOGIQUE	SERUM DES VEAUX DES TEMOINS	SERUM DES VEAUX DES TRAITEES
	+ CTP	+ CTP	+ CTP
	+ CTB	+ CTB	+ CTB
- Δ Ca	2,07 ± 0,03	1,98 ± 0,14	1,04 ± 0,10
(mg/100 ml)	1,09 ± 0,05	1,04 ± 0,05	0,68 ± 0,09
Signification		t = 0,529	t = 4,080
statistique		N.S.	P < 0,005

TABLÉAU 15 : TEMPS DE RETOUR A LA CALCÉMIE INITIALE A LA SUITE D'UNE PERFUSION CALCIQUE
CHEZ LES TRAITEES ET LES TEMOINS

Ca injecté	Δ Ca (mg/100 ml)	Signification statistique	TEMPS DE RETOUR A LA CALCÉMIE INITIALE (mn)	Signification statistique
30	15, 10 1, 90	7 traitées + 7 témoins	845 70	7 traitées + 7 témoins
mg/kg	11, 35 1, 81	7 témoins	503 25	7 témoins
13	5, 40 0, 74	t = 1, 026	388 29	t = 3, 125
mg/kg	6, 30 0, 83	N.S.	346 33	P < 0, 01

de la calcitonine bovine (MILHAUD et HANKISS, 1969), induits par l'injection d'hormone. Plusieurs arguments plaident en faveur de la première hypothèse :

- Ce facteur, comme les anticorps (FARAH, KURBAN et CHAGLIASSIAN, 1964) n'est pas détruit par chauffage à 60°C pendant 20 mn.
- Il se transmet de la Vache au Veau, probablement par le colostrum, vecteur des anticorps chez les Ruminants (ASCHAFFENBURG, 1949).
- En chromatographie sur gel Sephadex, il migre avec les γ globulines, qui comprennent les anticorps (LARVOR P., Communication personnelle).

Une surcharge en calcium stimule la sécrétion de calcitonine endogène chez le Rat (MILHAUD et PERAULT-STAUB, 1968). L'effet hypocalcémiant de la calcitonine endogène est moins intense chez les vaches traitées que chez les témoins (tableau 15). Chez le rat privé de calcitonine endogène par thyroïdectomie une surcharge calcique entraîne une hypercalcémie beaucoup plus prolongée que celle observée dans les mêmes conditions chez le rat normal (STURTRIDGE et KUMAR, 1967 ; MILHAUD et PERAULT-STAUB, 1968). De même, les vaches résistantes à la calcitonine porcine reviennent plus lentement à leur calcémie initiale que les témoins. Notre expérimentation ne permet pas de déceler si cela résulte de la neutralisation de la calcitonine endogène au sein du plasma ou d'une sécrétion amoindrie de cette hormone. Il est cependant possible que le facteur anti-calcitonine porcine existant chez les vaches traitées puisse être en même temps anti-calcitonine endogène. En effet, chez l'Homme, un traitement prolongé par la thyroïdostimuline bovine fait apparaître des anticorps anti-TSH bovine et anti-TSH endogène (HAYS, SOLOMON et BEALL, 1967). De même, chez la Souris, l'injection d'extraits thyroïdiens de Rat ou de Lapin fait apparaître des auto-anticorps qui attaquent les cellules folliculaires de l'animal (TWAROG et ROSE, 1968).

Les résultats obtenus dans le chapitre II confirment ceux du chapitre I : le Bovin adulte répond à une administration prolongée de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. Il paraît donc possible d'induire par la calcitonine, chez la Vache, une hypocalcémie et une hypophosphatémie comparables à celles observées dans le syndrome vitulaire, à condition de bloquer le catabolisme osseux pendant un temps suffisamment long. Cependant il paraît indispensable d'utiliser des animaux à jeun, en lactation depuis quelques semaines, n'ayant jamais reçu d'injection préalable de calcitonine.

CHAPITRE III

INDUCTION EXPERIMENTALE D'UN SYNDROME CLINIQUEMENT ET

BIOCHIMIQUEMENT ANALOGUE AU SYNDROME VITULAIRE

La démonstration du rôle de la calcitonine dans le syndrome vitulaire implique la reproduction expérimentale du syndrome par administration de calcitonine à des animaux normaux. Nous avons donc essayé d'induire un syndrome analogue au syndrome vitulaire en administrant à des Bovins des perfusions intraveineuses prolongée de calcitonine.

Matériel et méthodes :

.....

Nous avons utilisé 15 vaches Jersiaises âgées de 5 à 14 ans, d'un poids moyen de 270 kg, ayant mis bas 20 à 90 jours avant l'expérimentation, et dont la production journalière était alors supérieure à 15 kg de lait à 40 $\frac{0}{100}$ de matière grasse. 3 animaux (N° 2, 3 et 5) avaient présenté une hypocalcémie vitulaire spontanée 24 h après la parturition. Aucun animal n'était en gestation au moment de la perfusion. 1 génisse Jersiaise de 26 mois, pesant 249 kg, stérile, a également été utilisée.

Tous les animaux, dans le mois précédent la perfusion, recevaient du foin (ou de l'herbe) de pré ad libitum. Les vaches en lactation recevaient en outre un aliment concentré pour vaches laitières, leur apportant quotidiennement 10 à 15 g de calcium. Les animaux étaient mis à la diète hydrique pendant les 24 h précédant la perfusion et pendant celle-ci. 6 animaux ont été perfusés pendant 10 h. 3 ont reçu 4 U/h de calcitonine porcine préparée au laboratoire (5 U/mg). Les 3 autres ont reçu 4 U/h de calcitonine bovine préparée de la même façon (5 U/mg). 3 des 6 animaux, pris au hasard, ont reçu 10 jours après cette perfusion, pendant 10 h, le même volume de solvant (tampon acétate de soude à pH = 4.6) comme perfusion témoin.

7 vaches et la génisse ont été perfusées pendant un temps variant entre 9 et 22 h (Tableau 16 - Figure 17) avec de la calcitonine porcine préparée au laboratoire (5 U/mg ; 4 U/h), ou fournie par ARMOUR (60 U/mg ; 20 U/h). Le tampon acétate de soude, à

pH = 4.6, utilisé comme solvant, était additionnée de 0,1 % d'albumine bovine pour la calcitonine ARMOUR. 2 animaux utilisés comme témoins ont reçu le même volume de solvant (1000 ml) en 9 et 14 h. Pendant toute la durée de chaque perfusion, la préparation hormonale était maintenue à 4°C par un bain de glace fondante.

Résultats :

Chez les 6 vaches ayant reçu, pendant 10 h, 4 U/h de calcitonine porcine ou bovine, on observe à la fin de la perfusion une hypocalcémie intense et hautement significative ($t = 6,127$, pour 4 D.L., pour $P \leq 0,005$ $t = 5,598$, pour Δ Ca provoquée par la calcitonine porcine ; $t = 6,149$ pour Δ Ca provoqué par la calcitonine bovine) (Figure 16).

Les baisses de la phosphatémie sont analogues à celle de la calcémie (pour ΔP causé par la calcitonine porcine, $t = 4,907$, pour 4 D.L., pour $P \leq 0,01$, $t = 4,604$; pour ΔP consécutif à la calcitonine bovine, $t = 4,728$). Chez ces 6 animaux, de la 10ème à la 12ème heure, nous avons observé de légers symptômes rappelant une hypocalcémie vitulaire fruste (température corporelle s'abaissant de 2/10 à 4/10 de degré centigrade, légers tremblements au niveau des masses musculaires, absence d'appétit à la fin de la perfusion).

Chez les 7 animaux perfusés durant 9 h ou plus, et chez la génisse perfusée durant 22 h, au moment de l'arrêt de la perfusion de calcitonine, la calcémie était toujours inférieure à 5 mg/100 ml et la phosphatémie inférieure à 2 mg/100 ml (tableau 16, figure 17). Chez ces 8 animaux des symptômes cliniques, analogues à ceux observés dans l'hypocalcémie vitulaire typique spontanée, se manifestaient dans les minutes précédant l'arrêt de la perfusion. Ils débutaient par des tremblements et une incoordination motrice de l'animal, qui, incapable de maintenir une position normale, finissait par s'écrouler. Il prenait alors une position caractéristique (tête en position d'auto-auscultation) et était insensible à toute stimulation. On notait également (dans 4 cas sur 8) un abaissement de la température corporelle de l'ordre de 1°C.

Comme dans les cas spontanés, une injection intraveineuse de glutamate de calcium amenait un rétablissement rapide de l'animal.

Chez les 5 témoins on observe une hypocalcémie et une hypophosphatémie, de faible amplitude, mais significative ($P < 0,05$) à la fin de la perfusion.

TABLEAU 16 : CALCÉMIE ET PHOSPHATÉMIE DE 7 VACHES JERSAISES LORS DE L'INDUCTION
EXPERIMENTALE DU SYNDROME VITULAIRE

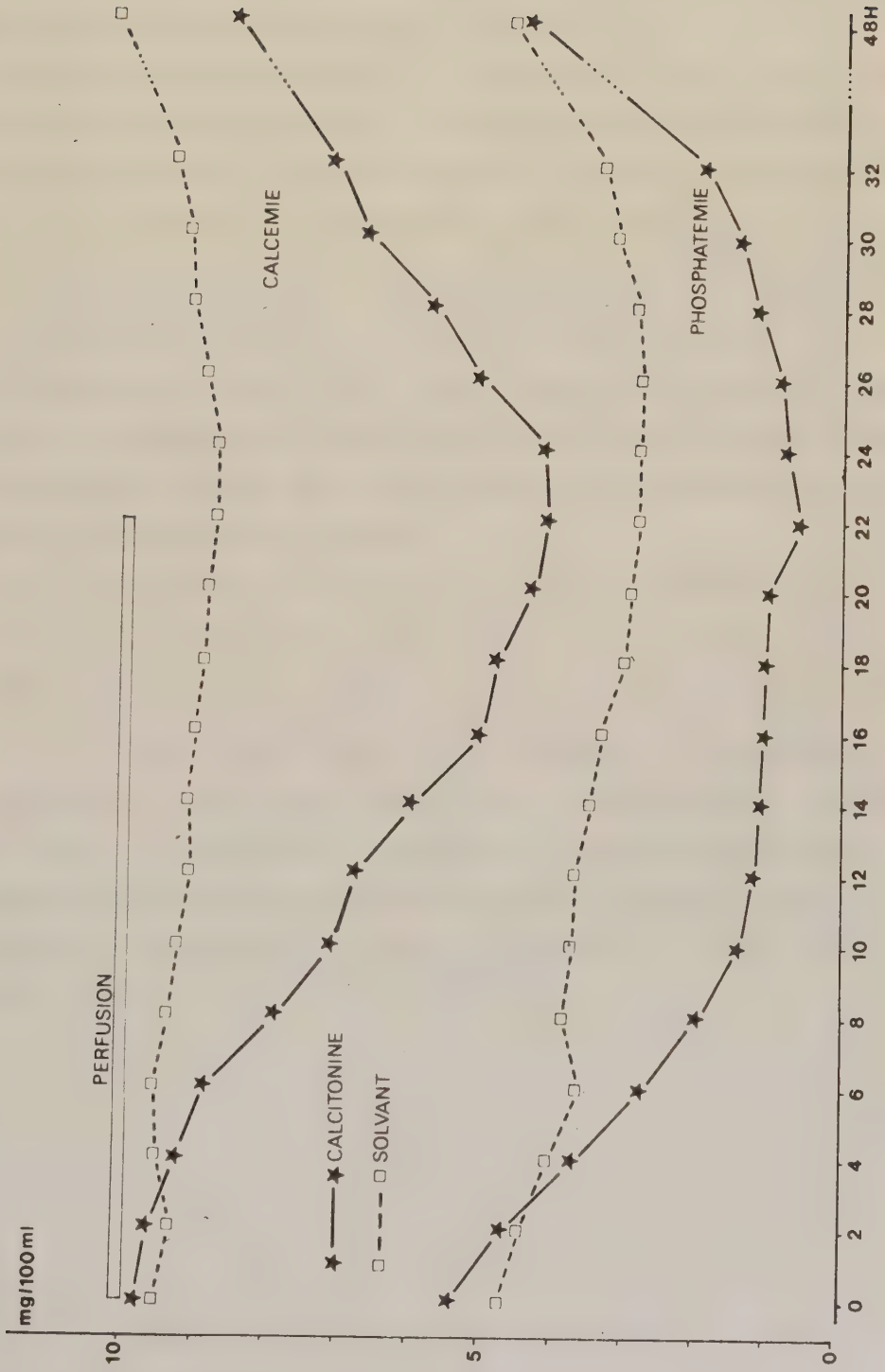
No Animal	AGE (années)	POIDS (kg)	Production journalière (kg)	Avant le jeûne Ca *	P *	Au début de la perfusion Ca *	P *	Durée perfusion (h)	Fin de perfusion Ca *	P *
1	7	249	16,3	10,28	6,84	9,47	5,60	9	4,38	1,78
2	6	267	17,1	9,87	5,74	9,21	4,96	14	4,56	0,96
3	9	254	25,4	10,05	6,10	9,08	4,27	11	3,90	1,28
4	11	256	16,9	10,10	5,40	9,60	4,00	18	4,25	1,45
5	12	288	15,3	9,75	4,90	9,20	3,80	17	4,10	1,95
6	10	276	17,9	9,60	5,40	9,20	4,00	20	4,60	1,30
7	14	238	15,6	9,80	4,85	9,00	3,70	19	4,10	1,95
8	9	261	15,9	10,32	6,20	9,84	4,64	9	9,10	4,20
9	10	248	16,2	9,85	5,80	9,10	4,40	14	8,70	3,90
TEMOINS										

Les animaux n° 5, 6 et 7 ont reçu de la calcitonine ARMOUR (60 U/mg).
* Valeurs exprimées en mg/100 ml.

URE 16 : HYPOCALCEMIE INDUITE PAR UNE PERFUSION PROLONGEE DE CALCITONINE CHEZ LA VACHE.



FIGURE 17 : INDUCTION EXPERIMENTALE DU SYNDROME VITULAIRE PAR PERFUSION PROLONGEE DE CALCITONINE
CHEZ UNE GENISSE.



Disucssion et conclusions :
.....

L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie observées chez les témoins à la fin de la perfusion coïncident avec la fin du jeûne chez ces animaux. Nous avons précédemment mis en évidence un fait analogue (chapitre II, paragraphe C). L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie observées chez ces animaux sont donc vraisemblablement dues au jeûne.

L'administration prolongée de calcitonine induit, chez la vache en lactation, une hypocalcémie et une hypophosphatémie analogues à celles observées dans le syndrome vitulaire spontané. La gravité des symptômes observés paraît être en relation avec le degré de l'hypocalcémie induite. Lorsque la baisse du calcium plasmatique ne dépasse pas 4 mg/100 ml, ce sont seulement des troubles légers qui apparaissent. Des observations analogues ont d'ailleurs été rapportées chez les vaches parturientes ("bordeline cows") (VAN SOEST et BLOSSER, 1954). C'est lorsque la calcémie est inférieure à 5 mg/100 ml que les symptômes nets se manifestent (tableau 16), analogues à ceux rencontrés dans les cas spontanés d'hypocalcémie vitulaire.

Ces observations confirment des résultats précédents concernant les valeurs de la calcémie rencontrées chez les animaux Jersiais atteints spontanément (Première partie). Elles montrent également que l'apparition de symptômes cliniques nets est due à une hypocalcémie sévère ; c'est ce qu'avait déjà démontré des perfusions intraveineuses d'EDTA administrées à des vaches Ayrshire et Frisonnes (PAYNE, SANSOM et MANSTON, 1963). La possibilité d'induire un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire par administration de calcitonine est un argument sérieux en faveur du rôle de la calcitonine dans l'hypocalcémie vitulaire spontanée.

CHAPITRE IV

EFFETS DE LA CALCITONINE CHEZ LA BREBIS

Comme nous l'avons montré dans la première partie de ce travail, chez la brebis parturiente, contrairement à ce qui se passe chez la Vache, on observe ni hypocalcémie, ni hypophosphatémie.

Il semblait donc intéressant de voir si la Brebis répondait à une administration de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie et si certains facteurs pouvaient modifier cette réponse.

A - INFLUENCE DE LA NATURE DE LA CALCITONINE

Nous avons vu précédemment, chez la Vache, que la calcitonine de Saumon avait un effet hypocalcémiant et hypophosphatémiant significativement plus prolongé que la calcitonine bovine ou porcine. Chez la Brebis, nous avons comparé l'effet d'une même dose de calcitonine porcine purifiée et de calcitonine humaine synthétique.

Matériel et méthodes :

.....

Nous avons utilisé 9 brebis de race Ravat, pesant 45 ± 1 Kg, 3 semaines après l'agnelage. Les animaux étaient mis à jeun 12 h avant l'injection.

La calcitonine porcine purifiée (CTP) (ARMOUR - 60 U/mg), la calcitonine humaine monomère synthétique (CTH) (don de C.J. ROBINSON et C.W. RITTEL) (750 mU/mg) étaient dissoutes dans le tampon acétate de soude (pH = 4.6) contenant 0,1 % de glycine. 2 lots de 3 animaux ont reçu 15 mU/kg de poids de calcitonine porcine ou humaine ; les 3 témoins ont reçu le même volume (20 ml) du solvant. Solvant et hormones étaient administrées par injection intraveineuse durant 1 mn.

Résultats :

.....

La calcitonine porcine, comme la calcitonine humaine, induit une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives ($P < 0,01$) chez la Brebis. L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par la calcitonine humaine sont significativement plus prolongées ($P < 0,01$) que

RE 18: HYPOCALCEMIE & HYPOPHOSPHATEMIE INDUITES PAR LA CALCITONINE HUMAINE & PAR LA
CALCITONINE PORCINE CHEZ LA BREBIS.

Ca(%)

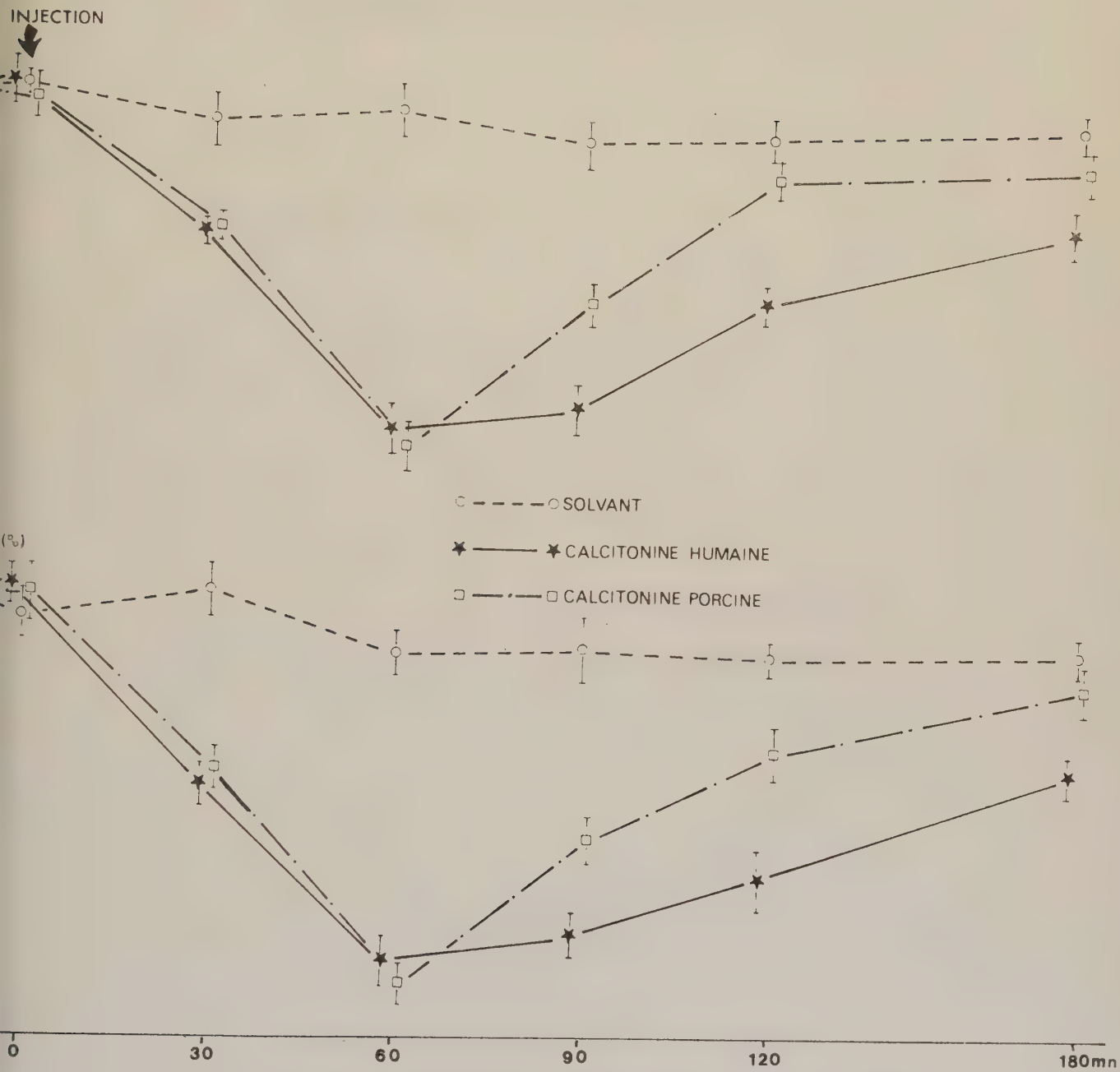
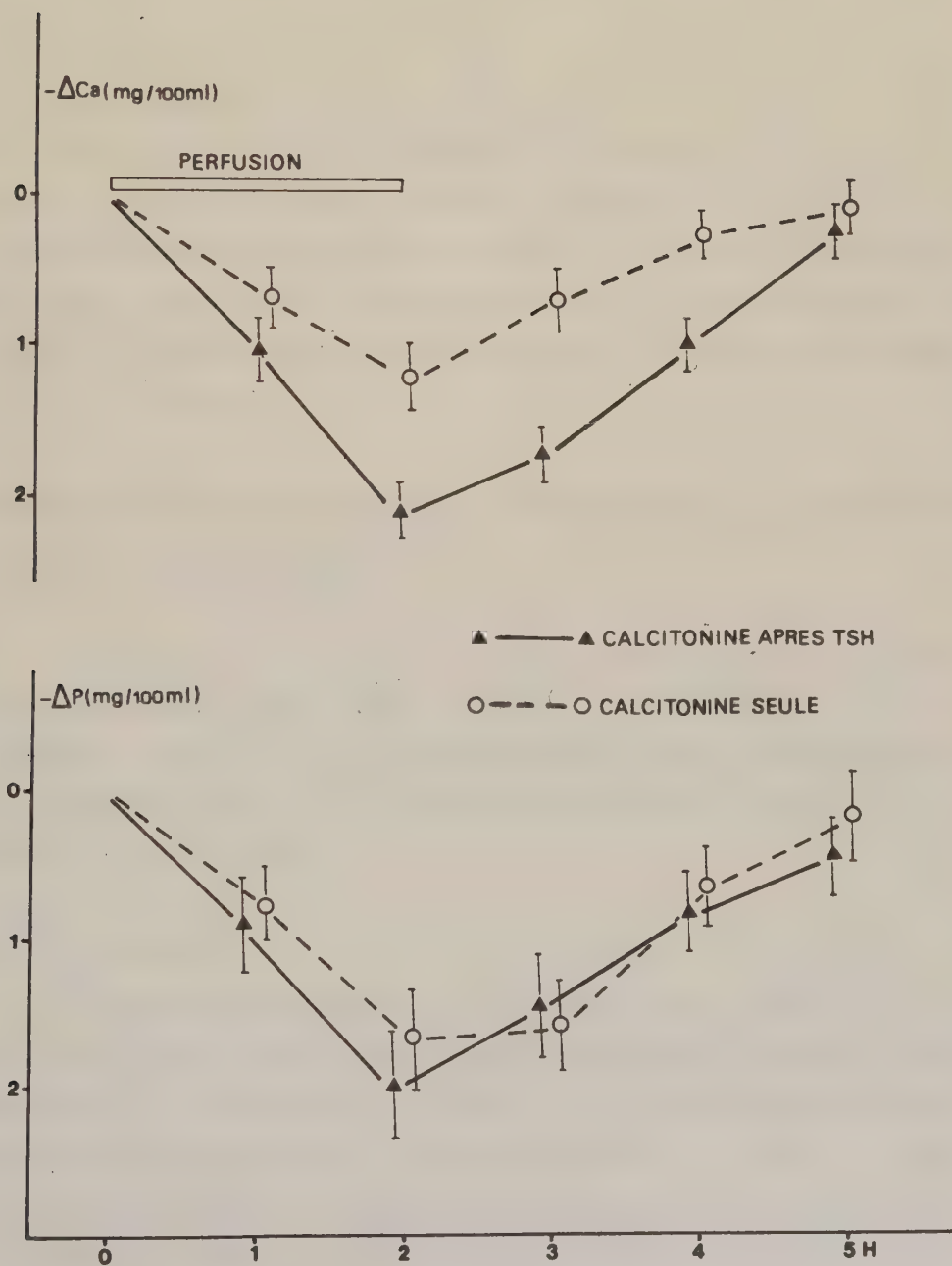


FIGURE 19 : INFLUENCE D'UN TRAITEMENT PAR TSH SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT ET HYPOPHOSPHATEMIANT DE LA CALCITONINE CHEZ LA BREBIS.



celles induites par la calcitonine porcine (figure 18).

Discussion et conclusions :

La Brebis, comme la Vache, répond à une administration intraveineuse de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie marquées. Ces résultats confirment ceux précédemment obtenus chez la Vache : le degré de purification n'est pas le seul facteur intervenant dans la durée de l'hypocalcémie induite par la calcitonine chez le Ruminant, puisque la calcitonine humaine synthétique a un effet plus prolongé que la calcitonine porcine purifiée. Chez le Lapin, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine humaine synthétique est plus prolongé que celui de la calcitonine porcine synthétique : cela semble résulter d'une inhibition plasmatique plus lente de la calcitonine humaine (AHER et col., 1970). Les faibles quantités de calcitonine humaine dont nous avons pu disposer ne nous ont pas permis de vérifier cette hypothèse chez la Brebis.

B - INFLUENCE D'UN TRAITEMENT PAR LA THYREOSTIMULINE SUR LA REPONSE DE LA BREBIS A LA CALCITONINE .

Nous avons vu que, chez la Vache, la thyroïdectomie inhibe partiellement l'effet hypocalcémiant de la calcitonine. Nous avons donc cherché à vérifier qu'un hyperthyroïdisme induit expérimentalement par administration de TSH pouvait potentialiser l'effet de la calcitonine chez la Brebis.

Matériel et méthodes :

6 brebis de race Limousine, âgées de 4 ans, pesant 58 ± 1 kg, en fin de lactation 3 mois après l'agnelage, ont été utilisées. Après un jeûne de 12 h, chaque animal recevait en 2 h une perfusion intraveineuse de calcitonine porcine purifiée (ARMOUR - 60 U/mg) à la dose de 1 U/kg, dissoute dans 100 ml de tampon acétate de soude contenant 0,1 % d'albumine bovine. 3 animaux avaient préalablement reçus quotidiennement, pendant les 10 jours précédant la perfusion, 2 mg de TSH ovine (NIH - TSH - S6) (2,5 unités USP/mg), par voie intramusculaire. Les animaux ont été abattus 36 h après la perfusion et les thyroïdes ont été prélevées et pesées.

Résultats :

L'administration de TSH pendant 10 jours induit chez la Brebis une perte de poids corporelle significative (Δ Poids = - 800 $\pm$ 40 g) ($P < 0,05$) comparativement aux témoins (Δ Poids = + 100 $\pm$ 90 g). Cette perte de poids corporel est associée à une thyroïde (4,49 $\pm$ 0,28 g) significativement moins lourde ($P < 0,05$) que chez les 3 témoins (5,04 $\pm$ 0,23 g). Ce traitement n'a pas d'effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie des animaux.

L'effet hypocalcémiant de la calcitonine est significativement plus intense ($P < 0,01$) chez les animaux traités à la TSH que chez les témoins. Nous n'avons pas trouvé de différence significative en ce qui concerne l'effet hypophosphatémiant (figure 19).

Discussion et conclusions :

Ce résultat confirme ceux obtenus chez la vache thyroïdectomisée supplémentée ou non en T_4 . Le traitement à la TSH aboutit à un hyperthyroïdisme, mis en évidence par une diminution du poids de la thyroïde et un amaigrissement corporel. Cet hyperthyroïdisme stimulant le métabolisme osseux, potentialise l'effet hypocalcémiant de la calcitonine, comme le fait le traitement à la thyroxine chez le Rat (MILHAUD et col., 1967). De même chez le Porc, l'administration de TSH pendant 10 jours, augmente significativement l'hypocalcémie induite par une hypersécrétion de calcitonine endogène (CARE et col., 1968).

L'absence d'effet significatif de la TSH sur l'hypophosphatémie induite par la calcitonine pourrait résulter de l'effet hyperphosphatémiant de la thyroxine, observé chez le Rat (MILHAUD et col., 1967).

C - COMPARAISON DES EFFETS BIOCHIMIQUES ET CLINIQUES D'UNE PERFUSION PROLONGEE DE CALCITONINE CHEZ LA VACHE ET CHEZ LA BREBIS

La Brebis, comme la Vache, répond à la calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie. Nous avons donc cherché à observer si une perfusion prolongée de calcitonine pouvait aboutir chez la Brebis aux mêmes modifications plasmatiques et symptômes cliniques que chez la Vache

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 10 brebis Limousines de 2 ans pesant 50 ± 2 kg, ayant mis-bas depuis 3 semaines, donc en période de lactation maximum (BRAITHWAITE, GLASCOCK et RIAZZUDIN, 1969). Tous les animaux ont été perfusés pendant 16 h et mis à jeun 12 h avant le début de la perfusion et pendant la durée de celle-ci. 3 animaux ont reçu 60 U de calcitonine ovine préparée au laboratoire (4 U/mg), et dissoute dans 250 ml de tampon acétate de soude à pH = 4.6. 4 brebis ont reçu 100 U de calcitonine porcine ARMOUR (60 U/mg) dissoute dans 250 ml de tampon acétate de soude à pH = 4.6, contenant 0,1 % d'albumine bovine. 3 témoins ont reçu pendant le même temps le même volume de solvant que les 7 animaux traités. Pendant la durée de chaque perfusion, la préparation hormonale était maintenue à 4°C par un bain de glace fondante.

Résultats :

Chez la brebis l'administration de calcitonine porcine induit une hypocalcémie et une hypophosphatémie intenses et hautement significatives ($P < 0.005$). L'hypocalcémie induite par la calcitonine ovine n'est pas significativement différente, ni en intensité ni en durée, de celle induite par la calcitonine porcine. Il n'existe pas non plus de différence significative au niveau de l'hypophosphatémie induite par ces deux calcitonines (figure 20).

Bien que chez les 6 animaux traités la calcémie ait été abaissée à 4 mg/100 ml et la phosphatémie à 2,5 mg/100 ml (figure 15), nous n'avons observé aucun symptôme clinique chez ces animaux pendant ou après la perfusion.

Chez le 4ème animal, traité à la calcitonine porcine (que nous pas inclu dans la moyenne des résultats obtenus avec la calcitonine porcine) la calcémie, très abaissée à la 12ème heure ($\Delta Ca = - 4,35$ mg/100 ml) s'est ensuite élevée avant la fin de la perfusion. La phosphatémie est restée au niveau atteint à la 12ème heure jusqu'à la fin de la perfusion (tableau 17).

Chez les témoins, à la fin de la perfusion, on observe une hypocalcémie et une hypophosphatémie, de faible amplitude mais significatives (figure 20).

Discussion et conclusions :

Cette baisse de la calcémie et de la phosphatémie, semble, chez les brebis témoins, comme chez les vaches témoins, provenir de la

TABLEAU 17 : PHENOMENE "D'ECHAPPEMENT" A L'ACTION HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE CHEZ LA BREBIS

Heures	0	2	4	6	8	10	12	14	16*	18	20	22	24	48
Ca (mg/100 ml)	9,10	9,00	8,10	7,20	6,50	5,30	<u>4,75</u>	4,95	<u>5,20</u>	5,40	6,15	6,80	7,10	8,90
P (mg/100 ml)	7,60	7,00	6,20	6,00	5,40	3,60	3,60	3,60	3,60	4,00	4,40	4,80	5,00	7,10

* Fin de la perfusion

Remarquer la remontée de la calcémie 2 h avant la fin de la perfusion

FIGURE 20 : EFFET HYPOCALCEMIANT ET HYPOPHOSPHATEMIANT DE LA CALCITONINE OVINE ET PORCINE CHEZ LA BREBIS.



mise à jeun des animaux avant et pendant la durée la perfusion (HERD, 1966). Nous n'avons jamais observé, chez la Vache, une remontée de la calcémie avant la fin de la perfusion de calcitonine. Cependant un phénomène analogue a été rapporté au cours d'expériences in vitro : des os de Rat traités pendant plusieurs jours à la calcitonine deviennent résistants au blocage du catabolisme osseux induit par l'hormone ("escape phenomenon") (RAISZ et col., 1967). Notre expérimentation ne nous permet pas d'affirmer qu'il s'agit d'un phénomène analogue, ou que, chez cet animal, l'inhibition de l'hormone au sein du plasma ait été fortement accrue avant la fin de la perfusion.

Comme la Vache, la brebis en lactation répond à une perfusion prolongée de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. Cependant, contrairement à ce que nous avons observé chez la Vache, une calcémie inférieure à 4 mg/100 ml n'entraîne l'apparition d'aucun symptôme chez la Brebis : les animaux s'alimentent normalement dès que le fourrage leur est distribué à la fin de la perfusion. Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune donnée concernant l'induction de tels symptômes à la suite d'hypocalcémies provoquées expérimentalement chez la Brebis. Les cas d'hypocalcémie spontanée survenant chez cet animal paraissent toujours associés à des troubles du métabolisme du magnésium et les symptômes qui les accompagnent paraissent plus proches de la tétanie d'herbage que du syndrome vitulaire (LITTLEJOHN et HEBERT, 1969). Néanmoins, dans notre expérimentation l'hypocalcémie intense a persisté seulement pendant une dizaine d'heures (figure 20). Il n'est donc pas exclu qu'une hypocalcémie de longue durée soit susceptible de faire apparaître des symptômes cliniques nets chez la Brebis (GREIG, 1929 ; EGYED et DELANGE, 1967). La réponse que nous avons obtenue chez nos animaux avec la calcitonine ovine semble permettre d'éliminer l'hypothèse d'une hypersécrétion de calcitonine chez la brebis parturiente, puisque ni hypocalcémie ni hypophosphatémie n'apparaissent à ce stade physiologique. Cette hypothèse paraît d'autant plus plausible que les quantités de calcitonine ovine utilisées (3750 mU/h) ne paraissent pas supérieures à celles pouvant être excrétées par la thyroïde ovine perfusée in situ (2000 μ U/mm/kg de poids vif, soit 6000 mU/h pour une brebis de 50 kg) (CARE et col., 1968).

La confirmation de l'hypothèse d'une hypersécrétion de calcitonine pouvant survenir chez la vache parturiente et non chez la Brebis au même moment, nécessite un dosage de la calcitonine plasmatique et thyroïdienne chez ces espèces à différents stades physiologiques. Ce sont ces observations qui seront rapportées dans la troisième partie de ce travail.

TROISIEME PARTIE

LA SECRETION DE CALCITONINE CHEZ LE RUMINANT

Depuis les observations rapportées ici, nous avons cherché à observer l'influence de l'âge, du stade physiologique sur les taux de calcitonine thyroïdienne et plasmatique chez les Bovins et chez les Ovins. Nous avons ensuite observé quels facteurs, autres que l'hypercalcémie, pouvaient influencer la sécrétion de calcitonine chez le Ruminant, en essayant ainsi de trouver une explication à la décharge de calcitonine survenant chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire.

CHAPITRE I

OBSERVATIONS SUR LES CELLULES C OVINES ET BOVINES

Les cellules C bovines ayant déjà fait l'objet de plusieurs travaux en microscope électronique (CAPEN et YOUNG, 1967a, 1967b, 1969 ; YOUNG et CAPEN, 1968, 1970), nous avons observé les cellules C de la Brebis, afin de comparer nos résultats avec ceux des auteurs précédents, obtenus chez la Vache.

Nos observations, effectuées en collaboration avec J.P. COLLIN, ont porté sur deux points :

- Démonstration de la sérotonine et des catécholamines dans les cellules C.
- Etude des cellules C de la Brebis parturiente en microscopie électronique.

A - MATERIEL ET METHODES

- Animaux : nous utilisons des animaux de l'abattoir du C.R. Z.V. de Theix. Les thyroïdes sont prélevées :

- Sur 4 veaux mâles Jersiais de 2 mois, dont 2 avaient reçu 50 mm plus tôt, 30 mg/kg de l-dopa.
- Sur 2 vaches Frisonnes de 9 ans, en lactation.
- Sur 2 agnelles Limousines de 18 mois, non gestantes.
- Sur 12 Brebis Charmoises, âgées de 3 ans, abattues dans les 24 h suivant l'agnelage.
- Le prélèvement a lieu immédiatement après la saignée, avant le dépeçage des animaux.

- MICROSCOPIE PHOTONIQUE -

TECHNIQUES TOPOGRAPHIQUES : les fragments thyroïdiens sont fixés au liquide de BOUIN, et imprégnés au nitrate d'argent (GRIMELIUS, 1968), ou colorés au bleu de toluidine (SOLCIA et col., 1968).

TECHNIQUES HISTOCHIMIQUES : mise en évidence de la sérotonine et des catécholamines (FALCK et col., 1962 ; FALCK et OWMAN, 1965 ; CORRODI et JONSSON, 1967).

Cette technique a déjà donné, par son extrême sensibilité, d'excellents résultats au niveau des systèmes nerveux central et périphérique, et également pour un certain nombre de glandes endocrines (FALCK et OWMAN, 1968). Immédiatement après le prélèvement de la thyroïde, des fragments thyroïdiens (de 1 mm de côté) sont plongés dans le propane liquide, puis dans l'azote liquide où ils séjournent 30 à 60 mn. Ils sont alors lyophilisés, pendant 24 à 48 h, à - 40°C. La déshydratation terminée, les pièces sont traitées aux vapeurs de paraformaldéhyde Merck, pendant 1h 15 à 3 h. Puis elles sont incluses sous vide dans la paraffine préalablement "dégazée". Les blocs sont alors sectionnés en coupes de 7 à 10 μ , montées dans l'Entellan (Merck), et observées au microscope Ortholux-Orthomat-Leitz, équipé de filtres BG 12 et K 530.

- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE -

Pour la fixation, les fragments de thyroïde ne dépassent pas 0,5 mm de côté. Les pièces sont plongées pendant 30 mn dans une solution glutardialdéhydrique (2 % dans le tampon phosphate selon Sørensen 0,1 M, pH= 7.4), rincées pendant 45 mn au tampon phosphate, post-fixées dans une solution d'acide osmique (2 %, tamponnée à 7.4) pendant 1 h, et rincées pendant 45 mn au tampon phosphate. Toutes ces opérations se déroulent à + 4°C.

Après déshydratation, les pièces sont incluses dans l'Epon (LUFT, 1961). Les coupes ultrafines, réalisées sur ultramicrotome OMU₂ Reichert, sont montées sur grilles et contrastées par le double traitement : acétate d'uranyle (WATSON, 1958), citrate de plomb (REYNOLDS, 1963). Les grilles recouvertes d'un mince film de carbone, vaporisé sous vide, sont examinées au microscope électronique Elmiskop IA du Département de Zoologie et de Biologie cellulaire de Clermont-Ferrand.

B - RESULTATS

Chez la Brebis, les cellules C peuvent être repérées facilement par l'imprégnation au nitrate d'argent (Pl. I, fig. 1 et 2). Leur localisation, au sein de la thyroïde, paraît très variable. Elles se rencontrent isolées dans la paroi des follicules ou, en amas, dans les espaces périvasculaires (Pl. I, fig. 1 et 2).

Chez la Vache, l'imprégnation au nitrate d'argent ou la coloration au bleu de toluidine ne permettent pas la mise en évidence spécifique des cellules C.

Chez l'Agnelle, le traitement aux vapeurs de formaldéhyde laisse apparaître une fluorescence jaune et labile dans les cellules C des thyroïdes examinées (Pl. I, fig. 3). Les fluorophores sont caractéristiques de la présence de sérotonine (5-HT), et peut-être du 5-hydroxytryptophane, dans les cellules C. L'intense fluorescence verte émise par les mastocytes est à rapporter vraisemblablement à la dopamine (FALCK, NYSTEDT, ROSENGREN et STENFLO, 1964).

Chez les Bovins, le traitement à la formaldéhyde permet de déceler une fluorescence verte, intense au niveau des mastocytes. Par contre, chez les veaux préalablement injectés à la l-dopa, les cellules C émettent aussi une fluorescence verte caractéristique de la dopamine, en relation avec leur affinité pour les précurseurs aminergiques (Pl. I, fig. 4 et 5). Des résultats analogues sont obtenus après une incubation de minces fragments thyroïdiens de Vache dans une solution de Ringer, contenant 4 mg/100 ml de l-dopa (Pl. I, fig. 6).

Nous n'entreprendrons pas ici, en microscopie électronique, une étude approfondie des cellules C. En effet, leur ultrastructure est connue chez un certain nombre de Mammifères. Celles des Ovins n'ont cependant pas fait l'objet d'études détaillées. Nous rapporterons des résultats acquis chez la Brebis. Ils se rapportent

essentiellement à l'analyse de certains organites cytoplasmiques, considérés dans un contexte physiologique précis : la parturition.

Les cellules C se distinguent aisément des cellules folliculaires par leur richesse en grains de sécrétion, contenus dans le cytoplasme. Elles ne peuvent être confondues avec les mastocytes qui renferment des inclusions denses, certes moins nombreuses, mais de taille beaucoup plus élevée.

Le noyau des cellules à calcitonine, grossièrement sphérique et parfois ovoïde, montre des amas de chromatine essentiellement contigus à l'enveloppe nucléaire (Pl. II, fig. 1), dont le feuillet externe est richement bordé de ribosomes. Le cytoplasme présente les organites classiques des cellules endocrines à synthèse et sécrétion peptidique. Les organites de synthèse sont représentés par de nombreux polysomes (Pl. II, fig. 1 et 2) et ribosomes fixés aux membranes des saccules du système réticulaire. Les saccules forment des empilements, plus ou moins importants (Pl. II, fig. 1 ; Pl. IV, fig. 1), mais, contrairement à ceux des cellules folliculaires, ils présentent rarement des dilatations en citernes, suggestives d'un important engorgement en protéines, ou glycoprotéines pour les éléments folliculaires. Ces différences pourraient être en rapport avec une migration plus ou moins rapide des protéines néoformées, selon les types cellulaires et les conditions physiologiques. L'appareil de Golgi (Pl. II, fig. 1 ; Pl. III, fig. 2 ; Pl. IV, fig. 1), comprend plusieurs groupes de dictyosomes, dont la localisation n'est jamais très stricte. Ces organites, composés de saccules incurvés, circonscrits par un matériel vésiculaire clair ou dense, témoignent d'une importante activité sécrétoire : en effet, à de nombreuses reprises, nous avons assisté au façonnage de grains denses, par bourgeonnement périphérique des saccules, généralement reconnus comme représentant les sites de stockage et de migration cellulaire de la calcitonine. Les grains de sécrétion (diamètre $650 \text{ \AA}$ à $4200 \text{ \AA}$) sont le plus souvent sphériques, et séparés du hyaloplasme par une capsule unitaire, d'origine golgienne. Le contenu dense des grains (calcitonine ? ou substrat protéique + calcitonine) est séparé de la capsule golgienne par un halo clair périphérique, plus particulièrement apparent dans les grains situés aux confins des dictyosomes, c'est-à-dire récemment élaborés. Les grains se retrouvent, quelles que soient les régions cytoplasmiques ; soit épars, soit formant des îlots de stockage (Pl. II, fig. 1 et 4 ; Pl. IV, fig. 2 et 3). Une polarité vasculaire de ces concentrations

apparaît à la fig. 3 (Pl. II) et à la fig. 3 (Pl. IV). Certaines vésicules, à contenu essentiellement clair, dont le diamètre est voisin de celui des grains de sécrétion, entrent en contact avec la membrane basale séparant les cellules C des espaces périvasculaires (Pl. II, fig. 3). De telles images, qui suggèrent une déplétion du contenu dense des grains, sont en faveur d'un phénomène d'excrétion qui demande néanmoins d'être vérifié.

Parmi les autres organites cellulaires, nous noterons l'existence de mitochondries éparses (Pl. II, fig. 1 ; Pl. III, fig. 2), de lysosomes (Pl. II, fig. 1 ; Pl. IV, fig. 1) et de rares figures concentriques de membranes résultant très probablement de la digestion de composants cytoplasmiques (Pl. IV, fig. 3) au niveau des lysosomes.

Les cellules C montrent une polarité vasculaire nette. Elles reposent (cellules intrafolliculaires) sur une assise basale ou sont emballées (cellules parafolliculaires) par celle-ci. (Pl. IV, fig. 2 et 3). A proximité, l'endothélium, fénêtré et pinocytaire, des capillaires (Pl. IV, fig. 2 et 3) est caractéristique des échanges importants qui s'effectuent entre le milieu interne (plasma) et l'ensemble des cellules thyroïdiennes. Nous n'avons noté aucune répartition stricte des organites cytoplasmiques pour les cellules C de la Brebis : il ne semble pas en être de même pour le Rat (EKHOLM et ERICSON, 1968).

Certaines cellules C nous ont montré un cytoplasma sombre (Pl. II, fig. 1 : C') et des saccules ergastoplasmiques gonflés. Il existe également dans les cellules, à cytoplasme clair, des variations dans la densité des grains (Pl. III, fig. 1). La validité de ces remarques est discutée ultérieurement.

Enfin aucun contact synaptique, entre fibres noradrénergiques (détectées en fluorescence U.V.) et cellules C, n'a pu être observé au cours de nos recherches ultrastructurales. Un contrôle des synthèses ou de l'excrétion de la calcitonine sous la dépendance du système sympathique ne peut cependant pas être éliminé, chez les Mammifères du fait de l'absence de synapses. En effet, la biosynthèse des indolamines épiphysaires (dont certaines sont considérées actuellement comme des hormones) est en partie contrôlée par la noradrénaline, sans qu'il y ait pour autant des contacts synaptiques entre les fibres noradrénergiques et les cellules pinéales (KAPPERS ARIENS, 1971 SHEIM, 1971). Rappelons ici que HODGES et GOULD (1969), suggèrent l'intervention du vague dans la sécrétion de calcitonine, chez la Poule.

C - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'impossibilité de mettre en évidence, dans les conditions naturelles, la sérotonine dans les cellules C bovines conduit à distinguer nettement celles-ci des cellules C ovines et caprines (FALCK et OWMAN, 1968 ; ETCHEVERRY et ZIEHER, 1968). A notre connaissance personne n'avait relaté cette particularité. Il est d'ailleurs possible que l'absence ou la faible teneur en sérotonine des cellules C bovines explique leur moins grande affinité pour le nitrate d'argent ou le bleu de toluidine. Néanmoins, chez les Bovins, comme chez les autres Mammifères, ces cellules paraissent capables de capter les précurseurs des amines biogènes et de les décarboxyler : en effet, après injection de l-dopa au veau, elles émettent une fluorescence verte à rapporter très vraisemblablement à la dopamine.

Examinées au microscope électronique, les cellules C des thyroïdes de brebis, abattues dans les 24 heures suivant la parturition, présentent tous les signes d'une synthèse et sécrétion actives de calcitonine. L'ergastoplasme et les polysomes sont bien développés. L'appareil de Golgi possède toujours des dictyosomes en activité sécrétoire. Enfin les grains de sécrétion sont très abondants. L'ensemble de ces critères indique une activité tout à fait normale. Ces résultats s'opposent aux observations effectuées chez la vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire (CAPEN et YOUNG, 1967a, 1967b) : chez celle-ci les grains de sécrétion sont absents, l'appareil de Golgi et les ribosomes sont très réduits : autant de signes qui indiquent que ces cellules ont non seulement libéré leur produit de sécrétion mais se sont mises au repos. Contrairement à ce qui se passe chez la vache, atteinte d'hypocalcémie vitulaire, chez la brebis post-parturiente, nous n'observons ni hypocalcémie ni hypophosphatémie (tableau 7) ; de plus, la teneur en calcitonine de la thyroïde de la brebis n'est pas modifiée significativement par l'agnelage (tableau 21) ; ces observations confirment le fonctionnement apparemment normal des cellules C à ce stade physiologique chez la Brebis.

Chez la Chauve-souris préhibernante, les cellules C renferment, comme chez la Brebis, des quantités importantes de sérotonine (GERSHON et NUNEZ, 1970). Or, chez celle-là, avant l'hibernation, la taille des grains de sécrétion atteint 2 à 5 μ dans 3 % environ des cellules C (NUNEZ et col., 1967). Nous n'avons jamais observé de tels grains chez nos animaux, ni la présence de matériel intraergastoplasmique dense comme chez la Chauve-souris. Nos observations, chez le

Mouton, ne confirment donc pas que la grande taille des grains de sécrétion soit en rapport avec un taux élevé de sérotonine dans les cellules C (GERSHON et NUNEZ, 1970).

Nous avons signalé la présence de certaines cellules C à hyaloplasme sombre, et des variations dans la densité des grains d'une cellule à l'autre. Bien qu'il ne nous soit pas possible de déterminer dans quelle mesure il peut s'agir :

- soit d'un artefact de fixation
- soit d'états différents d'activité sécrétoire des cellules C

(WELSCH, FLITNEY et PEARSE, 1969),

il faut signaler que des éléments "clairs" et "sombres" ont été observés chez le Hérisson (PEARSE et WELSCH, 1968) et chez le Cobaye (WELSCH, FLITNEY et PEARSE, 1969).

En conclusion, sur la base ultrastructurale, chez la brebis post-parturiente, les cellules C paraissent avoir une activité de synthèse et d'excrétion hormonales tout à fait normale. Les dosages de la calcémie et du taux de calcitonine intrathyroïdienne le confirment (Première partie et troisième partie, chapitre II). L'abondance des grains de sécrétion, au sein du cytoplasme des cellules C, pourrait d'ailleurs expliquer, au moins partiellement, l'absence d'hypocalcémie et d'hypophosphatémie chez la Brebis à la parturition.

- P L A N C H E I -

Mise en évidence des cellules C et détection des monoamines
thyroïdiennes chez les Ovins et les Bovins.

Figure 1 et 2 (x 200 et x 320). Brebis Charmoise de 3 ans.

Fixation : Bouin. Imprégnation : nitrate d'argent.

Remarquer les cellules C (flèches) dans la paroi des follicules ou en position intrafolliculaire, c'est à dire dans les espaces périvasculaires.

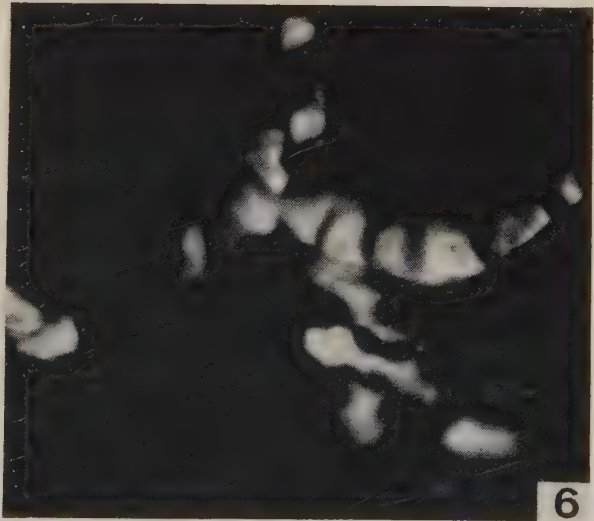
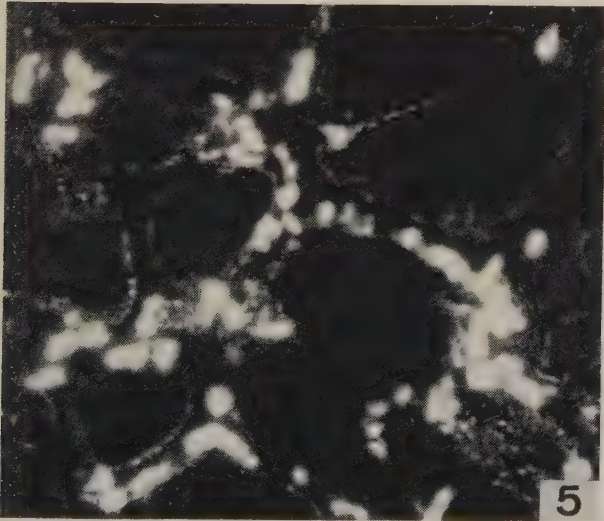
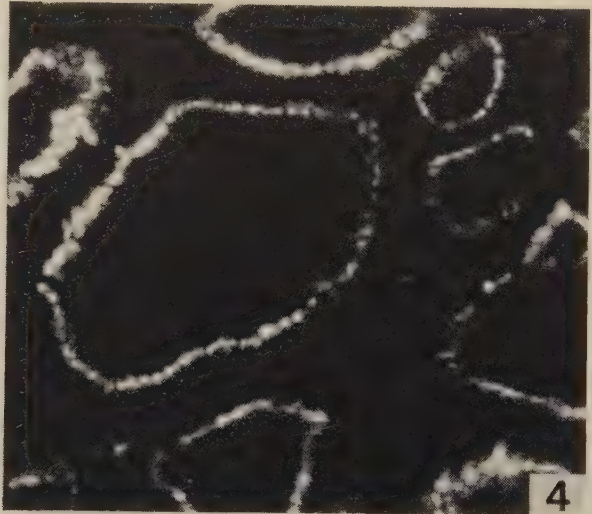
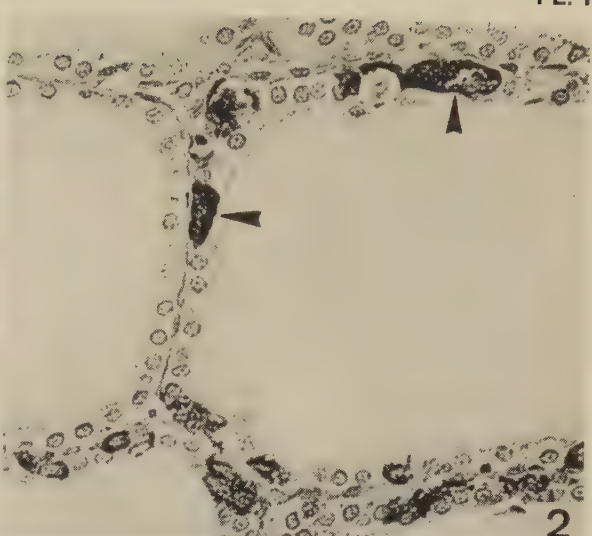
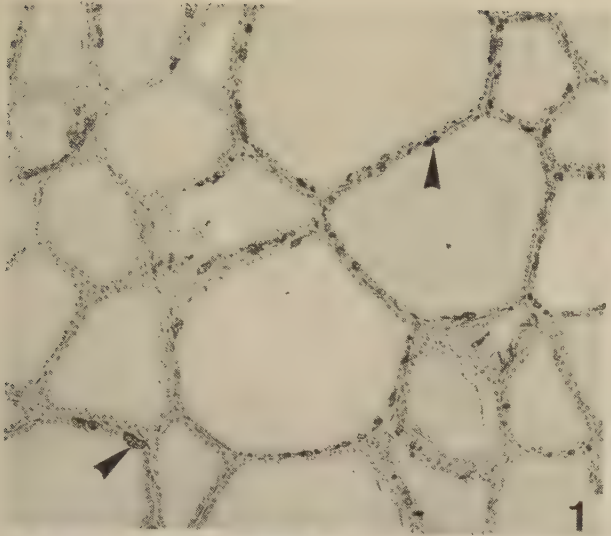
Figure 3 : Agnelle Limousine de 18 mois. Technique de FALCK et HILLARP.

Présence des indolamines (Sérotonine et (?) son précurseur, le 5-hydroxytryptophane) dans les cellules C, indiquée par une fluorescence jaune intense. Une flèche indique l'emplacement d'un mastocyte (à fluorescence verte).

Figure 4 : Veau Jersiais ♂, 2 mois, n'ayant pas subi d'injection de précurseur aminergique. Absence de fluorescence jaune spontanée au niveau des cellules C. Chez cette espèce, une fluorescence orangée aspécifique des amines, se localise au niveau des cellules folliculaires (Technique de FALCK et HILLARP).

Figure 5 : Veau Jersiais ♂, 2 mois, 50 mn après une injection de l-dopa (30 mg/kg). Les cellules C (ici en nombre important) peuvent être détectées, grâce à leur affinité pour le précurseur aminergique. Remarquer également la fluorescence orangée, aspécifique des amines dans les cellules folliculaires (technique de FALCK et HILLARP).

Figure 6 : Vache Frisonne, 9 ans, en lactation. Détection des cellules C après une incubation (60 mn) de fragments thyroïdiens dans une solution de Ringer, à 38°C, contenant 4 mg/100 ml de l-dopa (Technique de FALCK et HILLARP).



- P L A N C H E I I -

- PLANCHE II -

Ultrastructure des cellules C de la Brebis
(dans les 24 heures suivant la parturition)

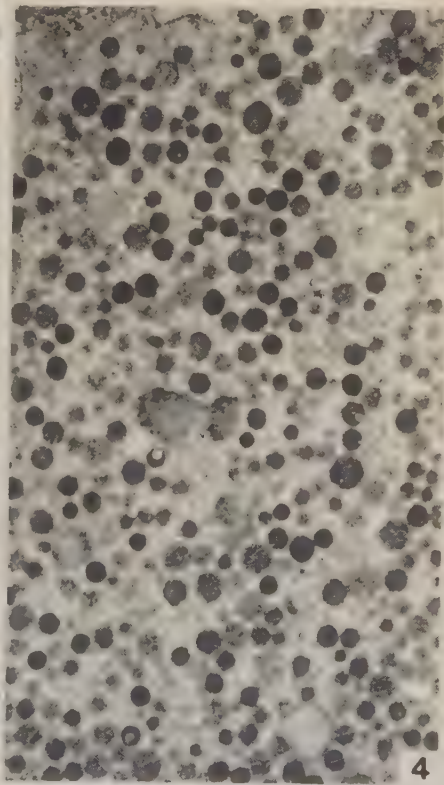
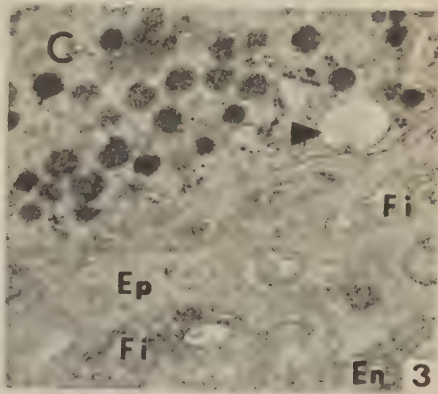
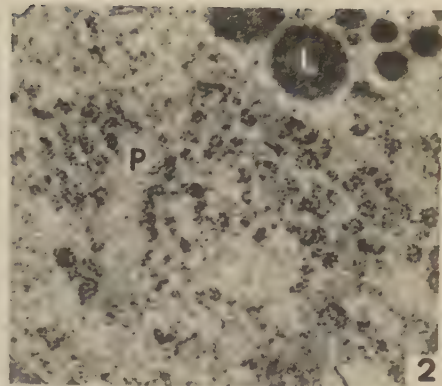
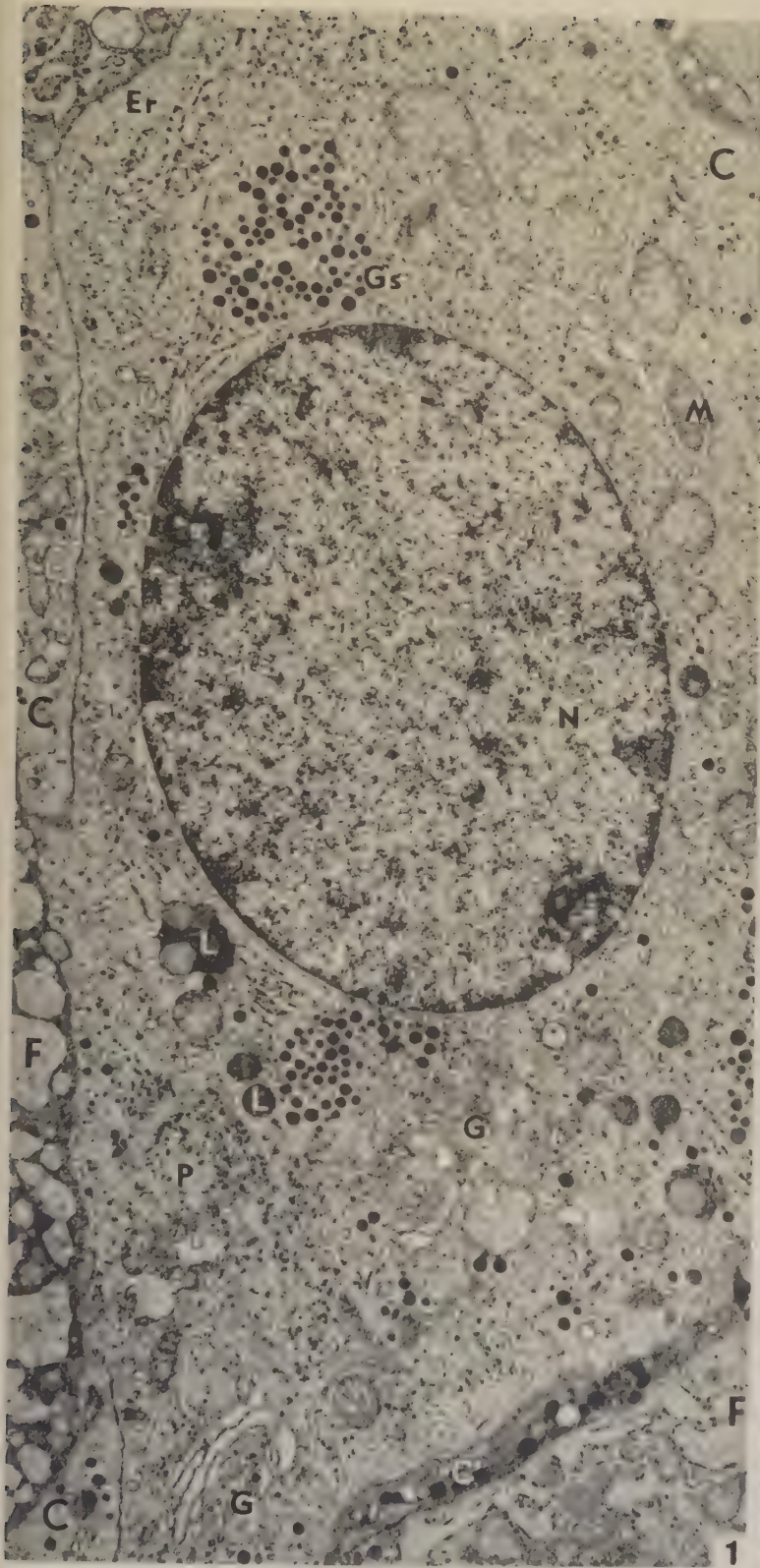
Figure 1 : Vue partielle d'une cellule C (C) dans la paroi d'un follicule thyroïdien (F).

(C' : cellule C sombre ; Er: ergastoplasme ; G : appareil de Golgi ; Gs : grains de sécrétion ; L : lysosome ; M : mitochondrie ; N : noyau ; P : polysomes).
(x 12 000).

Figure 2 : Abondance des polysomes (P) dans le cytoplasme des cellules C (L : lysosome).
(x 25 000).

Figure 3 : Polarité vasculaire d'une cellule C (C). La flèche indique la présence d'une vésicule à contenu essentiellement clair : voir le texte pour l'interprétation (En = Endothélium du capillaire ; Ep = espace péricapillaire ; Fi : fibrocyte).
(x 24 000).

Figure 4 : Importante concentration de grains de sécrétion dans une cellule C.
(x 17 000).



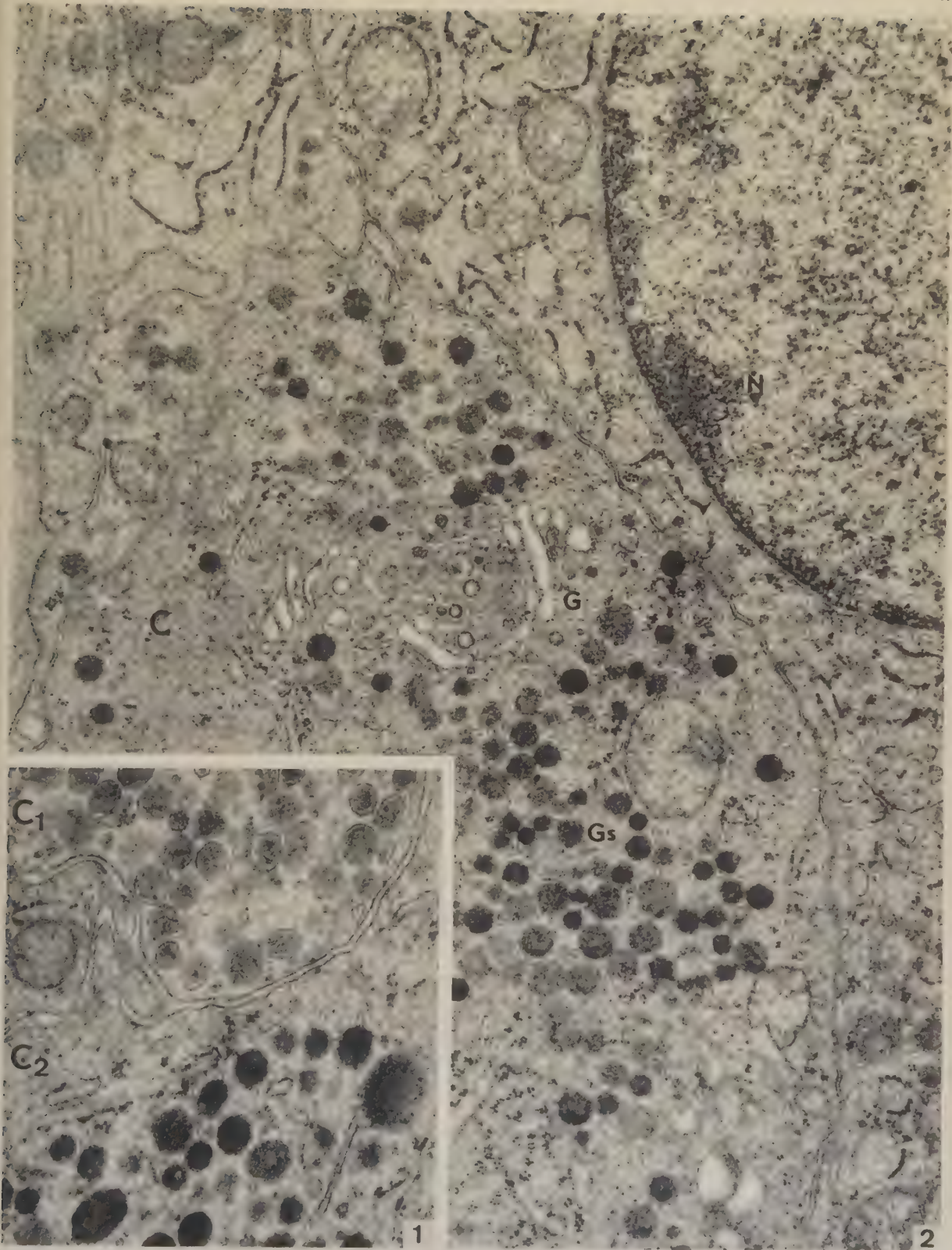
- P L A N C H E I I I -

- PLANCHE III -

Ultrastructure des cellules C de la Brebis
(dans les 24 heures suivant la parturition)

Figure 1 : Variations dans la densité des grains de sécrétion d'une cellule C (C_1) à l'autre (C_2).
(x 35 000).

Figure 2 : Activité des dictyosomes (G) et concentration des grains de sécrétion (Gs).
(x 26 000).



- P L A N C H E I V -

- PLANCHE IV -

Ultrastructure des cellules C de la Brebis
(dans les 24 heures suivant la parturition)

Figure 1 : Cytoplasme périnucléaire d'une cellule C montrant un empilement de saccules ergastoplasmiques (Er), des dictyosomes (G) et des lysosomes (L).

(N : noyau)

(x 22 500).

Figure 2 : Cellule C (C) à la base d'un follicule thyroïdien (F = cellule folliculaire), montrant une zone de stockage des grains de sécrétion (Gs). Remarquer l'endothélium (En) fenêtré (flèche) et pinocytaire.

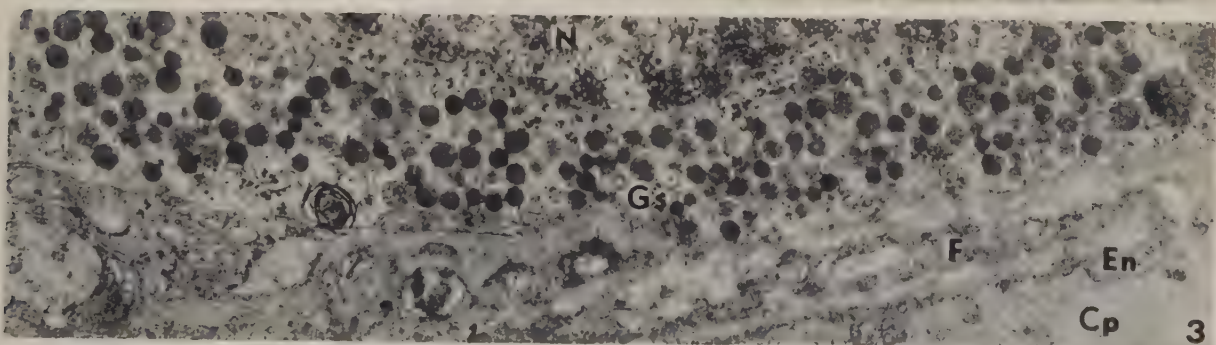
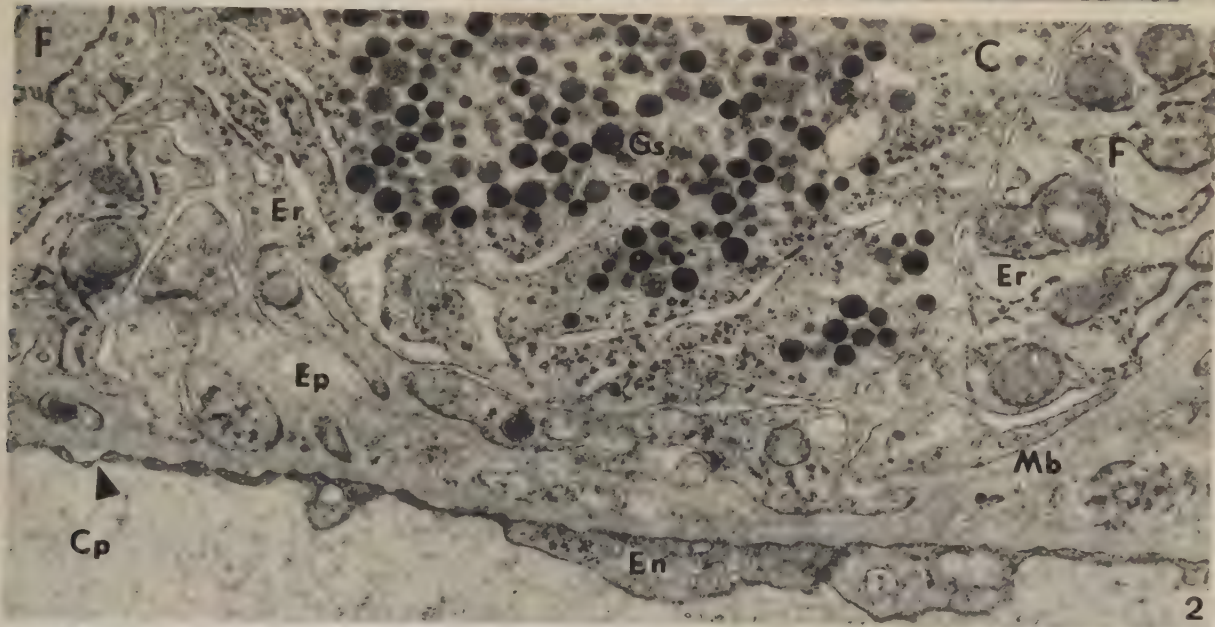
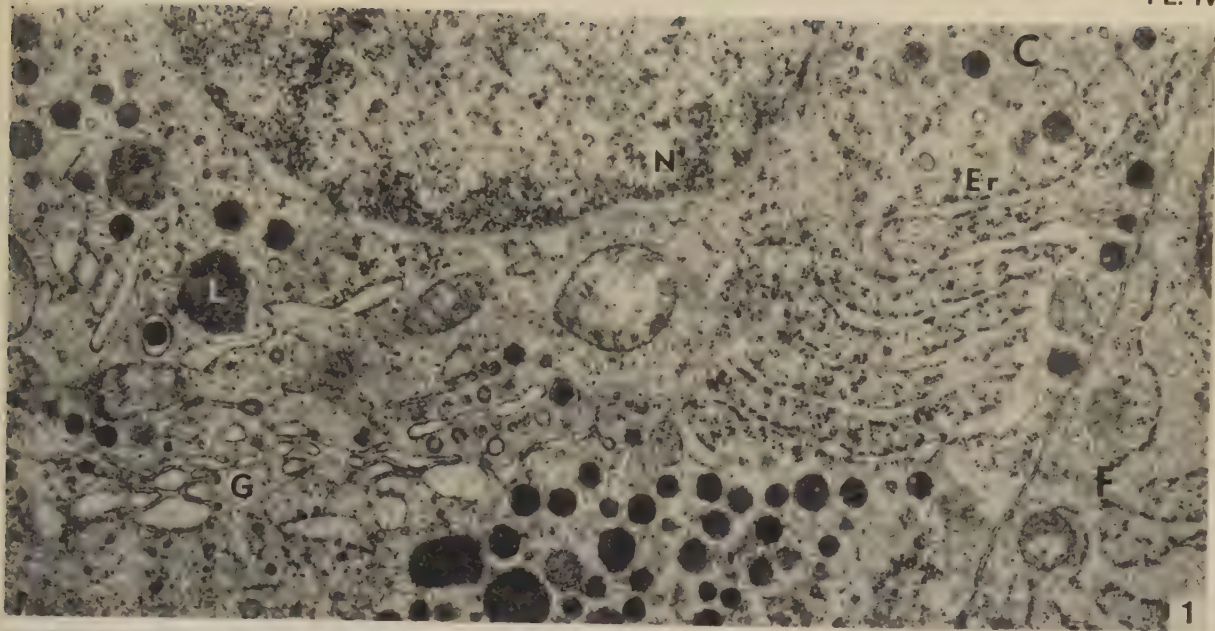
(Cp : capillaire; Ep : espace périvasculaire ; Er : ergastoplasme ; Mb : limitante basale).

(x 19 500).

Figure 3 : Polarité vasculaire d'une cellule C.

(Cp : capillaire ; En : endothélium ; F : fibrocyte ; Gs : grains de sécrétion ; N : noyau).

(x 20 000).



CHAPITRE II

DOSAGE BIOLOGIQUE DE LA CALCITONINE THYROÏDIENNE ET PLASMATIQUE CHEZ LE RUMINANT.

Si la calcitonine est responsable de l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie plus ou moins accentuées survenant au moment du part chez la vache normale ou présentant le syndrome vitulaire, l'hypocalcémie devrait être associée ou précédée par une élévation du taux de calcitonine plasmatique. Ce sont ces variations que nous avons cherché à observer, en essayant tout d'abord d'évaluer l'influence de divers facteurs physiologiques sur les taux plasmatique et intrathyroïdien de l'hormone.

A - MATERIEL ET METHODES

Si pour le dosage biologique de l'activité hypocalcémiant et hypophosphatémiant plasmatique nous avons pu disposer des échantillons de sang prélevés au moment désiré, il ne nous a pas été possible d'effectuer des prélèvements thyroïdiens sur des vaches parturientes normales ou atteintes d'hypocalcémie vitulaire. Nous avons pu doser la calcitonine dans la thyroïde de 6 brebis abattues dans les 24 h suivant l'agnelage.

Les échantillons de plasma étaient recueillis et conservé selon le protocole décrit dans les techniques générales.

Les échantillons de thyroïde dont nous avons pu disposer ont été récoltés à l'abattoir du C.R.Z.V. de Theix. La thyroïde était prélevée immédiatement après la saignée, avant le dépeçage de l'animal.

Chaque thyroïde recueillie dans un récipient en verre, réfrigéré par un bain de glace fondante, est ensuite débarassée des tissus conjonctifs et adipeux adjacents sur une pailleasse réfrigérée, puis pesée. On prélève alors sur toute la section transversale de chaque lobe thyroïdien un fragment de tissu, l'un à environ 1 cm de l'extrémité antérieure du lobe gauche, et l'autre à 1 cm de l'extrémité postérieure du droit. Ces 2 fragments (de 0,5 g chacun environ) sont aussitôt pesés avec précision et broyés dans un broyeur en verre de type POTTER, dans HCl 0,1 N, à 4°C (10 ml/g de thyroïde). Le broyat est

ensuite immédiatement centrifugé à 15000 g pendant 15 mn, à + 4°C. Le surnageant est recueilli et congelé à - 20°C pour le dosage biologique de l'activité hypocalcémiante.

B - RESULTATS

1 - Chez le bovin mâle

Le poids de la thyroïde est significativement plus faible chez les boeufs Charolais que chez les taurillons Salers ou Frisons, (pour 10 D.L., $t = 3,824$, pour $P \leq 0,01$, $t = 3,169$). Cependant la teneur spécifique de la thyroïde en calcitonine n'est pas significativement différente chez le Boeuf et le Taurillon. Mais la teneur de la thyroïde totale en calcitonine est significativement plus faible chez les Charolais castrés que chez les Frisons non castrés (pour 5 D.L., $t = 3,198$, pour $P < 0,05$, $t = 2,776$) ou que chez les Salers non castrés (pour 6 D.L., $t = 2,520$, pour $P < 0,05$, $t = 2,447$). Il n'existe pas de différence significative concernant la teneur de la thyroïde totale en calcitonine entre les taurillons Salers et Frisons (tableau 18).

Chez le veau Frison de 3 mois, la teneur de la thyroïde en calcitonine (exprimée en mU/g de thyroïde) est significativement plus faible que celle des animaux de même race et de même sexe âgés de 18 mois (pour 5 D.L., $t = 2,995$, $P < 0,05$) (tableau 18).

Le dosage biologique sur rats n'a pas permis de mettre en évidence une activité hypocalcémiante significative dans le plasma d'aucun de ces animaux.

2 - Chez la vache tarie ou en lactation

Comme le montre le tableau 19, il n'existe pas de différence significative concernant la teneur de la thyroïde en calcitonine (mU/g de thyroïde) entre les vaches taries de race Jersiaise, Charolaise ou Frisonne.

Par contre, chez les Frisones, la lactation diminue significativement la teneur spécifique (pour 5 D.L., $t = 2,839$, $P < 0,05$) et la teneur globale (pour 5 D.L., $t = 2,874$, $P < 0,05$) de la thyroïde en calcitonine.

Chez les vaches Charolaises gestantes de 6 mois la teneur spécifique ($t = 3,090$, $P < 0,05$) et la teneur totale ($t = 3,118$, $P < 0,05$) de la thyroïde en calcitonine sont significativement plus faibles que chez les vaches de même race non gestantes (tableau 19).

TABLEAU 18 : TENEUR EN CALCITONINE DE LA THYROÏDE DU VEAU, DU BOEUF ET DU TAURILLON

RACE	FRISONS	SALERS	CHAROLAIS
Age	3 mois	18 mois	20 mois
Sexe	♂	♂	♂ castré
Nombre d'animaux	4	3	5
Calcémie (mg/100 ml)	10,28 ± 0,17	10,11 ± 0,09	10,19 ± 0,12
Poids de la thyroïde (g)	8,9 ± 1,7	39 ± 4,3	41 ± 4,8
mU CT/g de thyroïde	289 ± 084	784 ± 123	697 ± 104
mU CT/thyroïde	2600 ± 679	30576 ± 1224	28577 ± 1028
			25142 ± 941

TABLEAU 19 : INFLUENCE DE LA GESTATION ET DE LA LACTATION SUR LA TENEUR EN CALCITONINE DE LA THYROÏDE DE VACHE

RACE	JERSIAISE	FRISONNE	CHAROLAISE
Stade physiologique	Tarie, non gestante:	Tarie, non gestante:	Tarie, non gestante:
Nombre d'animaux	4	5	4
Calcémie (mg/100 ml)	10,02 ± 0,17	10,11 ± 0,21	10,36 ± 0,29
Poids de la thyroïde (g)	18 ± 2,6	28 ± 1,4	29 ± 2,3
mU de CT/g de thyroïde	721 ± 119	681 ± 72	638 ± 103
mU de CT/thyroïde	12970 ± 1331	19068 ± 1227	18502 ± 2039
			13497 ± 1024

Le dosage biologique sur rats n'a permis de mettre en évidence une activité hypocalcémiant significative dans le plasma d'aucun de ces animaux.

3 - Chez la vache parturiente

Au moment de la parturition, le plasma des vaches renferme un facteur hypocalcémiant et hypophosphatémiant qui peut être mis en évidence par dosage biologique sur rats (figure 21). Le rapport des activités hypocalcémiant et hypophosphatémiant du plasma est voisin de 1. L'administration intraveineuse de 0,5 ou 1,5 ml de plasma de ces vaches parturientes, provoque chez le rat, une hypocalcémie. En comparant celle-ci avec celle provoquée par l'injection intraveineuse de 5 et 15 mU de calcitonine standard B, la pente des 2 droites de représentant la relation log dose-hypocalcémie induite n'est pas significativement différente.

Chez le Rat, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induite par l'injection intraveineuse de 0,5 et 1,5 ml de plasma provenant de 11 vaches, atteintes d'hypocalcémie vitulaire sont significativement plus accentuées que celles obtenues avec les plasmas provenant des 17 animaux normaux ($P < 0,01$) (tableau 20).

TABEAU 20 : TAUX DE CALCITONINE PLASMATIQUE (mU/ml) DE LA VACHE DANS LES 24 HEURES SUIVANT LA PARTURITION.

(	:	:	:	)
(ANIMAUX	:	JERSIAIS	:	FRISONS
(	:	:	:	)
(	:	:	:	)
(Normaux	:	2,60 ± 0,31	:	1,74 ± 0,40
(	:	(9)	:	(8)
(	:	:	:	)
(	:	:	:	)
(	:	:	:	)
(Atteints d'hypocalcémie	:	3,84 ± 0,32	:	3,29 ± 0,28
(	:	(7)	:	(4)
(	:	:	:	)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux.

Dans les 48 heures précédant le vêlage, il existe une corrélation positive significative entre la calcémie de la Vache et l'effet

hypocalcémiant du plasma (pour 11 prélèvements sur 6 vaches Frisonnes, $r = 0,743$, $P < 0,01$). Dans les 48 heures suivant le vêlage cette corrélation devient négative, mais toujours significative, aussi bien chez les vaches Frisonnes (pour 7 prélèvements sur 5 animaux, $r = - 0,890$, $P < 0,05$) que Jersiais (pour 10 prélèvements sur 10 animaux, $r = - 0,934$, $P < 0,01$).

Ceci ne peut s'interpréter de façon satisfaisante que si l'on admet que chez l'animal avant parturition, la calcémie règle, comme il est normal, la sécrétion de calcitonine, tandis qu'après la parturition la sécrétion de calcitonine devient indépendante de la calcémie, et règle celle-ci.

4 - Chez le Mouton

Comme chez les Bovins, la teneur de la thyroïde de l'Agneau en calcitonine ne représente que 40 % de celle observée chez la Brebis adulte tarie, et cette différence est significative (pour 4 D.L., $t = 4,728$, pour $P \leq 0,01$, $t = 4,604$).

Dans les 12 heures qui suivent l'agnelage, la teneur de la thyroïde de la Brebis en calcitonine n'est pas significativement différente de celle des animaux témoins du même âge (tableau 21).

Contrairement à ce que nous avons observé chez la Vache, chez la Brebis nous n'avons pas pu mettre en évidence une activité plasmatique hypocalcémiante significative dans les 12 heures suivant l'agnelage.

C - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Chez le jeune ruminant la concentration intrathyroïdienne en calcitonine paraît être moins de la moitié de celle observée chez l'adulte (tableaux 17 et 20). Cette observation ne paraît pas particulière aux ruminants. Chez le porcelet de 1 à 3 jours, la concentration de la thyroïde en calcitonine ne dépasse pas 1,5 U/g, alors qu'elle atteint 10 U/g chez le porc de 106 jours (PHILLIPPO, CARE et HINDE, 1969). Chez le rat de 5 jours, la teneur de la thyroïde en calcitonine n'atteint que 11 % de la valeur observée chez l'animal de 60 jours (FRANKEL et YASUMURA, 1970).

Chez le Taurillon, la teneur totale de la thyroïde en calcitonine est supérieure à celle observée chez le Boeuf de même âge (tableau 17). Cette différence paraît uniquement liée à la différence de poids de la thyroïde puisque la concentration en calcitonine

(exprimée en mU/g), n'est pas significativement différente chez le mâle normal ou castré.

De plus, bien que nous ayons prélevé, pour le dosage biologique de l'activité hypocalcémiant, deux fragments de thyroïde aussi éloignés que possible l'un de l'autre, il est probable que cette méthode de prélèvement n'est pas parfaite. En effet, chez l'Homme, les parties supérieures et latérales des lobes thyroïdiens possèdent une activité hypocalcémiant plus intense que celle des parties inférieures et médianes des mêmes lobes (ALIAPOULIOS et ROSE, 1970). Néanmoins les concentrations que nous avons obtenues chez les vaches tarées (valeurs extrêmes 535 et 840 mU/g) ou chez des brebis (700 mU/g) sont en accord avec celles obtenues par d'autres auteurs chez des vaches Jersiaises tarées (600 - 700 mU/g) (YOUNG et CAPEN, 1970), et chez la Brebis (600-1000 mU/g) (CARE, communication personnelle).

Chez la Vache, la parturition est toujours associée à une hypocalcémie et à une hypophosphatémie. Elle correspond en outre à l'apparition dans le plasma de l'animal d'un facteur hypocalcémiant et hypophosphatémiant chez le Rat (figure 21). Ce facteur semble bien être de la calcitonine. En effet :

- Chez le Rat, le rapport des activités hypocalcémiant et hypophosphatémiant est voisin de 1.

- La pente des droites de régression représentant la relation logarithme de la dose-hypocalcémiant induite est analogue à celle des droites obtenues avec la calcitonine purifiée.

- Le dosage radioimmunologique a permis de confirmer une élévation du taux de calcitonine plasmatique chez la vache parturiente (LEQUIN et col., 1969).

Bien que notre méthode de dosage biologique de la calcitonine plasmatique ne soit pas parfaite, la corrélation obtenue avec la méthode de dosage radioimmunologique est hautement significative (cf Figure 2 - Techniques générales). Or, nous avons observé une élévation hautement significative du taux de calcitonine plasmatique chez les vaches présentant le syndrome vitulaire par rapport aux vaches normales (tableau 20). La méthode de dosage radioimmunologique a d'ailleurs permis de confirmer cette observation : chez une vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire le taux de calcitonine plasmatique était de 260 pg/ml ; 5 jours plus tard alors que la calcémie était redevenue normale, il était devenu trop faible pour être évalué par radioimmunologie (CARE et col., 1970). De plus, chez la vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire, la concentration thyroïdienne en calcitonine

Ca
(mg/100ml)

10

5

★ — VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE

○ - - - VACHE NORMALE

VELAGE

-48

-24

2

4

5

24 h

-ΔCa⁽¹⁾
(mg/100 ml)

-48

-24

2

4

5

24 h

(1) ΔCa a été obtenu en mesurant la calcémie d'un lot de 5 rats 1h après l'injection intraveineuse de 2 ml de plasma

n'est que 30 % de celle observée chez la vache parturiente normale (CAPEN et YOUNG, 1967b). Les cellules C de ces animaux hypocalcémiques, examinées au microscope électronique, paraissent avoir excrété la majorité de la calcitonine synthétisée (YOUNG et CAPEN, 1968).

Cette brusque excrétion de calcitonine paraît bien être la cause de l'hypocalcémie et de l'hypophosphatémie observées. En effet chez le rat parathyroïdectomisé, hypocalcémique, la teneur en calcitonine de la thyroïde est 12 fois supérieure à celle du témoin, alors que chez le rat hypercalcémique par gavage de Cl_2Ca , la teneur de la thyroïde en calcitonine diminue de 35 % par rapport à celle des témoins (GITTES, TOVERUD et COOPER, 1962).

Contrairement à certains travaux qui font aussi état d'un facteur hypocalcémiant et hypophosphatémiant dans le plasma des vaches parturientes (BAGLIONI et DELMONTE, 1969 ; JACKSON et col., 1970), d'autres auteurs n'ont pas réussi à mettre en évidence un facteur hypocalcémiant dans le plasma des vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire (NURMIO, 1968). Or l'effet hypocalcémiant n'a pas été testé sur rats, mais sur de jeunes veaux, qui on le sait (BARLET, 1968a), répondent très mal à l'administration de la calcitonine ! Chez l'agneau, ce plasma de vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire entraîne une hypophosphatémie intense sans modifier significativement la calcémie (MOODIE, 1968b). NURMIO (1968) qui n'a pas non plus réussi à mettre en évidence une diminution de l'excrétion urinaire d'hydroxyproline chez les vaches présentant le syndrome vitulaire, en conclut que le catabolisme osseux ne doit pas être bloqué par la calcitonine chez ces animaux. En réalité il semble que l'excrétion urinaire d'hydroxyproline soit un très mauvais témoin de l'intensité du catabolisme osseux dans les heures suivant la parturition. En effet le taux d'hydroxyproline est proportionnel au catabolisme du collagène (PROCKOP et KIVIRIKKO, 1967). Or, chez la Vache, l'involution de l'utérus, dans les heures suivant le vêlage, libère des quantités d'hydroxyproline telles qu'il est impossible d'avoir, par cette méthode, une idée de l'intensité du catabolisme osseux (FAUCONNEAU G., Communication personnelle).

Chez la Brebis, où l'on observe ni hypocalcémie, ni hypophosphatémie à la parturition, nous n'avons pas observé de diminution de la concentration thyroïdienne en calcitonine dans les 12 h suivant l'agnelage (tableau 21). Nous n'avons pas non plus pu mettre en évidence une activité hypocalcémiante plasmatique significative à aucun moment.

Il semble donc que, chez la Vache, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie plus ou moins accentuées accompagnant la parturition soient

dues à une décharge de calcitonine plus ou moins intense. Normalement l'excrétion de calcitonine est réglée par la calcémie (CARE, 1965 ; CARE et col., 1968). Or ni la calcémie ni le taux plasmatique de calcium ultrafiltrable ne s'élèvent, chez la Vache, dans les heures précédant la parturition (figure 3). De plus, dans les heures qui la suivent le taux de calcitonine circulante parait régler la calcémie puisqu'il existe une corrélation négative significative entre la calcémie et l'activité hypocalcémiante plasmatique.

Ceci semble indiquer qu'un facteur autre que l'hypercalcémie pourrait déclencher une excrétion de calcitonine chez la Vache. C'est la raison pour laquelle nous avons été conduits à étudier l'influence de divers facteurs sur les taux thyroïdien et plasmatique de calcitonine chez le ruminant.

0

0

0

CHAPITRE III

OBSERVATIONS SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DU GLUCAGON

L'effet hypocalcémiant du glucagon est connu chez diverses espèces animales : Lapin (PALOYAN, PALOYAN et HARPER, 1967a), Chien (PALOYAN, PALOYAN et HARPER, 1967b), Homme (PALOYAN, 1967 ; BIRGE et AVIOLI, 1969), Rat (MORAIN et ALIAPOULIOS, 1968), Singe (RAMAN, 1970). Le mécanisme de cet effet hypocalcémiant est encore très mal expliqué. Il n'est pas dû à une élévation de la calciurie (BIRGE et AVIOLI, 1969) ; de plus l'hypocalcémie apparaît aussi chez le rat néphrectomisé (MORAIN et ALIAPOULIOS, 1968). Chez le Porc, le glucagon perfusé dans la thyroïde in situ, stimule la sécrétion de calcitonine (CARE, BATES et GITELMAN, 1969). Cependant, chez le Rat, l'action hypocalcémiante du glucagon persiste chez l'animal thyroïdectomisé (BOWSER, HENDERSON et WILLIAMS, 1968) ; (HATTNER et col., 1970) . Ceci semblait indiquer que, chez le Rat, l'hypocalcémie induite ne résulterait pas d'une décharge de calcitonine. Nous avons alors essayé d'apporter une explication à ces résultats apparemment contradictoires.

A) Chez le Rat

Nous avons cherché à voir si, chez le Rat, l'hypocalcémie induite par le glucagon, persistante après thyroïdectomie, ne pourrait pas être due à une localisation extrathyroïdienne de certaines cellules C. Ces cellules, d'origine ultimobranchiale, peuvent, chez l'Homme, se localiser dans les parathyroïdes et le thymus (GALANTE et col., 1968). Puisque les parathyroïdes sont enlevées avec la thyroïde au cours de la thyroïdectomie par ablation chirurgicale, nous avons observé l'effet du glucagon chez le rat normal, chez le rat thyroparathyroïdectomisé et chez le rat thyroparathyroïdectomisé et thymectomisé.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé des rats Sherman ♂, de 40 jours, pesant 90 à 100 g. 10 animaux ont été thyroparathyroïdectomisés (TPX) et 10 autres thyroparathyroïdectomisés et thymectomisés (TPX + TMX), chirurgicalement, sous anesthésie à l'éther.

La calcémie de ces 20 animaux, 24 h après l'opération, est de $7,04 \pm 0,06$ mg/100 ml. Ils reçoivent alors, quotidiennement et pendant 5 jours 5 μ g de thyroxine (THYROXINE - ROCHE) par voie intramusculaire et, pour ramener leur calcémie à un niveau normal, 15000 U.I. de vitamine D₃, par voie sous cutanée (MELANCON et DE LUCA, 1969). De plus l'eau de boisson est additionnée de 1 % de lactate de calcium.

Le 5ème jour le glucagon est administré par voie intrapéritonéale (1 mg/rat) à ces animaux et à 10 normaux (N). 10 témoins normaux reçoivent de la même façon 1 ml de sérum physiologique, solvant du glucagon. Le sang est prélevé par ponction cardiaque 60 mn après l'injection.

Les 10 thyroïdes, comme les 10 thymus des 10 rats TPX + TMX, sont prélevés et placés dans 60 ml d'HCl 0,1 N glacé, et broyées à 4°C. Les 2 broyats sont centrifugés 20 mn à 4°C à 15000 g. Les surnageants sont alors recueillis et congelés à -20°C avant la mesure de l'activité hypocalcémiant par dosage biologique en 2 points sur rats.

De plus, pour voir s'il pouvait exister des variations individuelles dans l'activité hypocalcémiant du thymus, nous avons prélevé isolément le thymus de 10 rats. Chaque organe, placé dans 6 ml d'0,1 N est traité comme précédemment, et chaque extrait est ensuite injecté à 1 groupe de 4 rats, par voie intrapéritonéale, 6 témoins recevant 1 ml de solvant. Le sang de ces 46 rats est prélevé par ponction cardiaque 60 mn après l'injection.

Tous les animaux sont mis à jeun 16 h avant les injections.

Résultats :

1°) Le glucagon possède chez le rat normal une activité hypocalcémiant et hypophosphatémiant, qui persiste chez l'animal thyroparathyroïdectomisé, mais qui disparaît chez l'animal thyroparathyroïdectomisé et thymectomisé. L'effet hyperglycémiant de l'hormone est significatif chez les 3 groupes d'animaux (tableau 22).

2°) La thyroïde du rat Sherman de 40 jours possède une activité hypocalcémiant et hypophosphatémiant de 108 ± 23 mU M.F.C. Le thymus du même animal possède une activité hypocalcémiant et hypophosphatémiant de 115 ± 17 mU M.R.C. La pente de la droite de régression représentant la relation entre logarithme et le dose d'extrait thymique injecté et l'hypocalcémie induite est analogue à celle obtenue avec la calcitonine standard B ou un extrait thyroïdien.

3°) Sur un lot de 10 rats (6 ♂ et 4 ♀), le thymus de 6 animaux (5 ♂ et 1 ♀) possède une activité hypocalcémiant significative (tableau 23).

TABEAU 22 : EFFETS DU GLUCAGON SUR LA CALCEMIE. LA PHOSPHATEMIE, LA MAGNESIEMIE ET LA GLYCEMIE CHEZ LE RAT NORMAL (N), THYROPARATHYROIDECTOMISE (TPX), THYROPARATHYROIDECTOMISE ET THYMECTOMISE (TPX + TMX).

Animaux	Témoins	N	TPX	TPX + TMX
Gc	9,73 ± 0,06	8,76 ± 0,06	8,75 ± 0,10	9,74 ± 0,05
(mg/100 ml)		t = 12,60	t = 12,73	t = 0,158
P	7,42 ± 0,15	6,71 ± 0,18	6,67 ± 0,17	7,33 ± 0,22
(mg/100 ml)		t = 4,01	t = 3,36	t = 0,346
Glycémie	0,92 ± 0,03	1,36 ± 0,05	1,11 ± 0,07	1,21 ± 0,06
(g/l)		t = 7,08	t = 4,49	t = 4,73

Signification statistique : pour 8 D.L. , pour $P \leq 0,05$ $t = 2,31$
 $P \leq 0,01$ $t = 3,36$

TABLEAU 23 : EFFET DE 10 EXTRAITS THYMIQUES SUR LA CALCÉMIE DU RAT

POIDS (g) ET SEXE DU DONNEUR	97 ♀	95 ♂	91 ♂	90 ♂	98 ♂	94 ♂	97 ♂	100 ♀	98 ♀	94 ♀	Solution
Poids thymus (mg)	190	199	201	226	206	217	211	203	204	207	témoin
Ca (mg/100 ml)	9,60 ± 0,07	9,87 ± 0,04	10,37 ± 0,24	10,55 ± 0,12	10,26 ± 0,10	9,91 ± 0,07	10,21 ± 0,17	10,49 ± 0,20	10,30 ± 0,33	10,29 ± 0,19	10,71 ± 0,07
t	3,59	7,48	1,60	1,24	3,63	6,66	3,03	1,24	1,46	2,37	témoins

Pour 8 D.L., pour $P \leq 0,05$ $t = 2,31$
pour $P \leq 0,01$ $t = 3,36$

Discussion et conclusions :
.....

Chez le Rat, le thymus, comme la thyroïde, renferme un facteur hypocalcémiant qui semble être de la calcitonine. En effet, la pente de la droite représentant la relation logarithme de la dose-hypocalcémie induite est analogue à celle obtenue avec de la calcitonine purifiée, et le rapport des activités hypocalcémiantes et hypophosphatémiantes est voisin de 1. Bien qu'il ne nous ait pas été possible de mettre en évidence des cellules C dans le thymus des animaux utilisés, il paraît vraisemblable que le thymus du Rat renferme des cellules C (AVIOLI LV. Communication personnelle). En effet des fragments de tissu, thyroïdien fonctionnel, d'importance variable, ont été mis en évidence dans le thymus des rats Sprague-Dawley (ASLING et col., 1957). Le thymus de certaines souris renferme également des cellules ayant les caractères histologiques des cellules C (MOUKHTAR M.S., Communication personnelle).

Si les cellules C sont effectivement présentes dans le thymus du Rat, l'effet hypocalcémiant du glucagon, dans la mesure où il est dû à une stimulation de la décharge de calcitonine, peut donc persister chez le rat thyroparathyroïdectomisé (TANZER, KENNEDY et TALMAGE, 1970) et disparaître chez le rat thyroparathyroïdectomisé et thymectomisé (tableau 22).

Cependant les travaux effectués à l'aide du ⁴⁷Ca paraissent indiquer que le glucagon pourrait induire une hypocalcémie en augmentant l'anabolisme osseux (VILLIAMS, BOWSTER et HENDERSON, 1969). Contrairement à cela, on n'observe pas de modification de la radioactivité spécifique plasmatique à la suite de l'injection de glucagon au Chien (AVIOLI et col., 1969). Et le glucagon paraît inhiber le catabolisme des os embryonnaires de Rat cultivés in vitro (STERN et BELL, 1970).

Notre expérimentation ne permet de pas d'éliminer la possibilité d'une hypocalcémie due à une action directe du glucagon au niveau de la résorption ou (et) de l'accrétion osseuse, ou à une augmentation de la concentration calcique intracellulaire des tissus mous (NAYLER et col., 1970). Elle montre cependant que chez le Rat, comme chez le Chien, la suppression des organes où peuvent persister des dérivés du corps ultimobranchial suffit à faire disparaître l'effet hypocalcémiant du glucagon. Ceci confirmerait le rôle du thymus dans la régulation du métabolisme calcique du Rat (CSABA, PETER et KISS, 1969).

Chez les Ruminants, le problème d'une localisation extra-thyroïdienne des cellules C paraît peu probable puisque, chez le Veau, la thyroïdectomie fait disparaître toute trace de calcitonine décelable

par radioimmunologie (LEQUIN et col., 1969). Nous avons donc essayé de voir si le glucagon peut induire une hypocalcémie de la Vache, et si celle-ci persistait après thyroïdectomie.

B) Chez les Bovins

L'observation de l'effet hypocalcémiant du glucagon chez les Bovins paraissait d'autant plus intéressant qu'il existe une corrélation négative hautement significative ($r = - 0,621$, $P < 0,01$) entre la calcémie et la glycémie de la vache parturiente (cf Première partie). On pouvait alors penser que, le glucagon pouvait être responsable de l'hyperglycémie et, en même temps, de la décharge de calcitonine survenant au vêlage. Il était donc nécessaire d'étudier l'effet du glucagon sur la calcémie et la sécrétion de calcitonine chez les Bovins et de mesurer la glucagonémie de la vache parturiente, normale ou atteinte d'hypocalcémie vitulaire.

1 - Effet du glucagon sur la calcémie de la Vache -

La vérification de l'hypothèse précédente impliquait tout d'abord de montrer que le glucagon possède une action hypocalcémiante et hypophosphatémiante chez la vache normale, mais qui disparaît chez la vache thyroïdectomisée, privée de source de calcitonine endogène.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 9 vaches Jersiaises pesant 270 ± 20 kg. 3 animaux, thyroïdectomisés (TX) chirurgicalement, ont reçu pendant 21 jours suivant l'opération ($10 \mu\text{g/kg/j}$ de T_4 (THYROXINE ROCHE)). La perfusion de glucagon leur a été alors administrée comme aux 3 vaches normales (N). Ces 6 animaux ont reçu par voie intraveineuse, en 1 h, $100 \mu\text{g/kg}$ de glucagon (glucagon de porc - NOVO). Celui-ci était dissout dans 200 ml de sérum physiologique, additionné de 100 000 unités K.I. d'un inhibiteur de la kallikréine plasmatique (ZYMOFREN - SPECIA) pour éviter une dégradation rapide du glucagon (VANCE et col., 1968). 3 vaches témoins recevaient de la même façon, pendant le même temps, le même volume de solvant additionné de la même quantité de "ZYMOFREN". Tous les animaux étaient mis à jeun 16 h avant le début de la perfusion et pendant la durée de celle-ci.

Résultats :

L'administration intraveineuse de glucagon entraîne chez les 3 vaches normales une hypocalcémie et une hypophosphatémie hautement

significatives ($\Delta \text{Ca} = - 1,8 \pm 0,3$, $\Delta \text{P} = - 2,2 \pm 0,7 \text{ mg/100 ml}$) dès la fin de la perfusion ($\text{P} < 0,01$) et qui persistent 2 h plus tard ($\text{P} < 0,05$). Chez les animaux, thyroïdectomisés, comme chez les témoins, on n'observe ni hypocalcémie ni hypophosphatémie significatives (figure 22).

Chez les 3 animaux normaux et chez les 3 animaux thyroïdectomisés on observe une hyperglycémie hautement significative ($\text{P} < 0,01$) dès la fin de la perfusion, mais qui n'apparaît plus 1 h plus tard (tableau 24).

2 - Effet du glucagon sur la sécrétion de calcitonine -

Si chez les bovins, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par le glucagon sont dues à une décharge de calcitonine, l'administration de glucagon doit entraîner une élévation de la calcitoninémie chez la vache. C'est ce que nous avons cherché à démontrer.

Matériel et méthodes :

Chez une vache Jersiaise de 6 ans, pesant 240 kg, tarie et non gestante, en collaboration avec A.D. CARE, nous avons réalisé la perfusion in situ d'un lobe thyroïdien.

Cette expérimentation a été effectuée selon une technique déjà utilisée chez le porc (CARE, 1965). Après anesthésie de l'animal au fluothane, le lobe gauche de la thyroïde était dégagé des tissus adjacents et séparé de l'isthme par incision et ligature. Seule la veine thyroïdienne supérieure et l'artère thyroïdienne inférieure les plus importantes étaient conservées, les autres vaisseaux étant ligaturés. Le lobe était alors perfusé par la carotide et l'artère thyroïdienne inférieure non ligaturée. La carotide était clampée 2 cm au dessus de l'embranchement de cette artère et le lobe était alors perfusé avec du sang prélevé à l'extrémité distale de la carotide sectionnée 5 cm plus bas. Le perfusat était soit normocalcémique et enrichi en glucagon, soit hypercalcémique (figure 23).

Le débit de la perfusion était maintenu constant par une pompe (10 ml/mn), et analogue au débit de la veine thyroïdienne sur laquelle était prélevé le sang efférent. Celui-ci était récolté dans des tubes refroidis à 4°C par un bain de glace fondante. Il était immédiatement centrifugé pendant 10 mn à 4°C, à 5000 g, et le plasma était recueilli et congelé à -20°C pour le dosage radioimmunologique de la calcitonine.

Celui-ci était effectué par W.H.L. HACKENG selon une

TABLEAU 24 : EFFET DU GLUCAGON SUR LA GLYCÉMIE (g/l) DE LA VACHE NORMALE (N) OU THYROIDECTOMISÉE (TX)

Temps (h) :	- 0,5	0 *	+ 1 **	+ 2	+ 3	+ 4	+ 5
Animaux							
N (3)	0,58 ± 0,04	0,58 ± 0,04	1,02 ± 0,20	0,60 ± 0,05	0,60 ± 0,07	0,59 ± 0,05	0,58 ± 0,04
TX (3)	0,57 ± 0,05	0,57 ± 0,08	0,98 ± 0,10	0,61 ± 0,09	0,60 ± 0,04	0,59 ± 0,05	0,60 ± 0,04
TEMOIN (3)	0,58 ± 0,09	0,57 ± 0,04	0,60 ± 0,05	0,58 ± 0,02	0,56 ± 0,01	0,57 ± 0,03	0,58 ± 0,04

* Début de la perfusion

** Fin de la perfusion

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux utilisés.

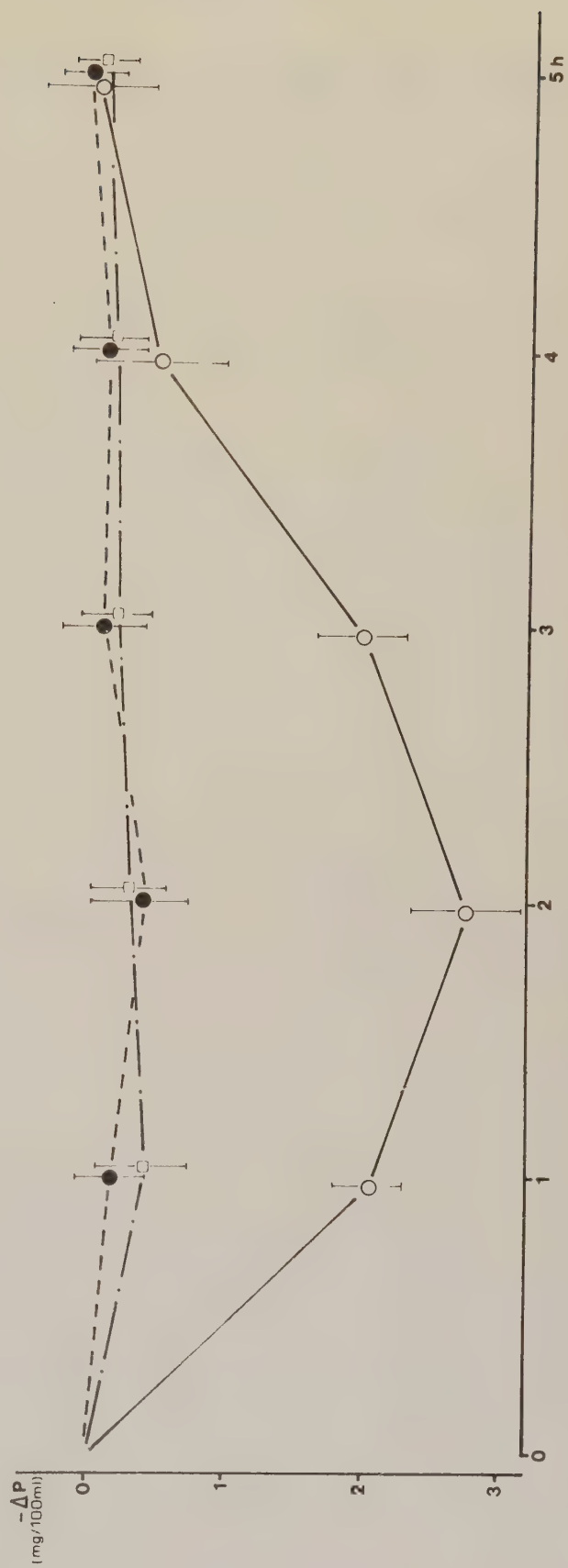
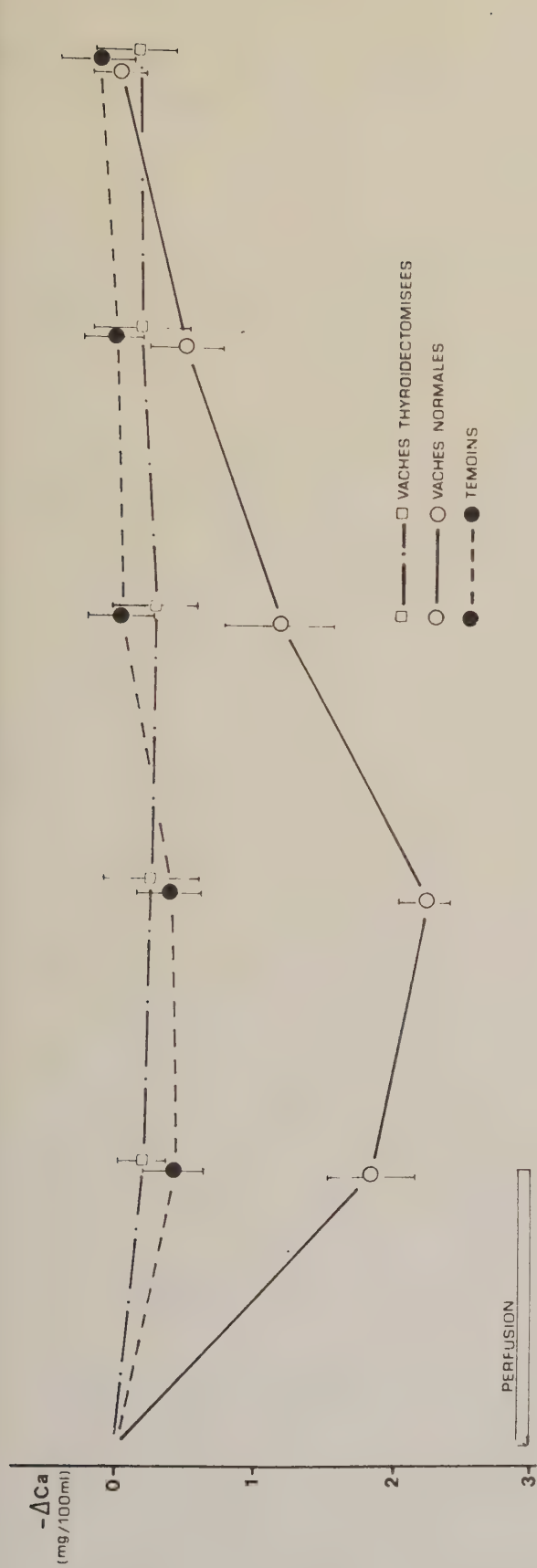
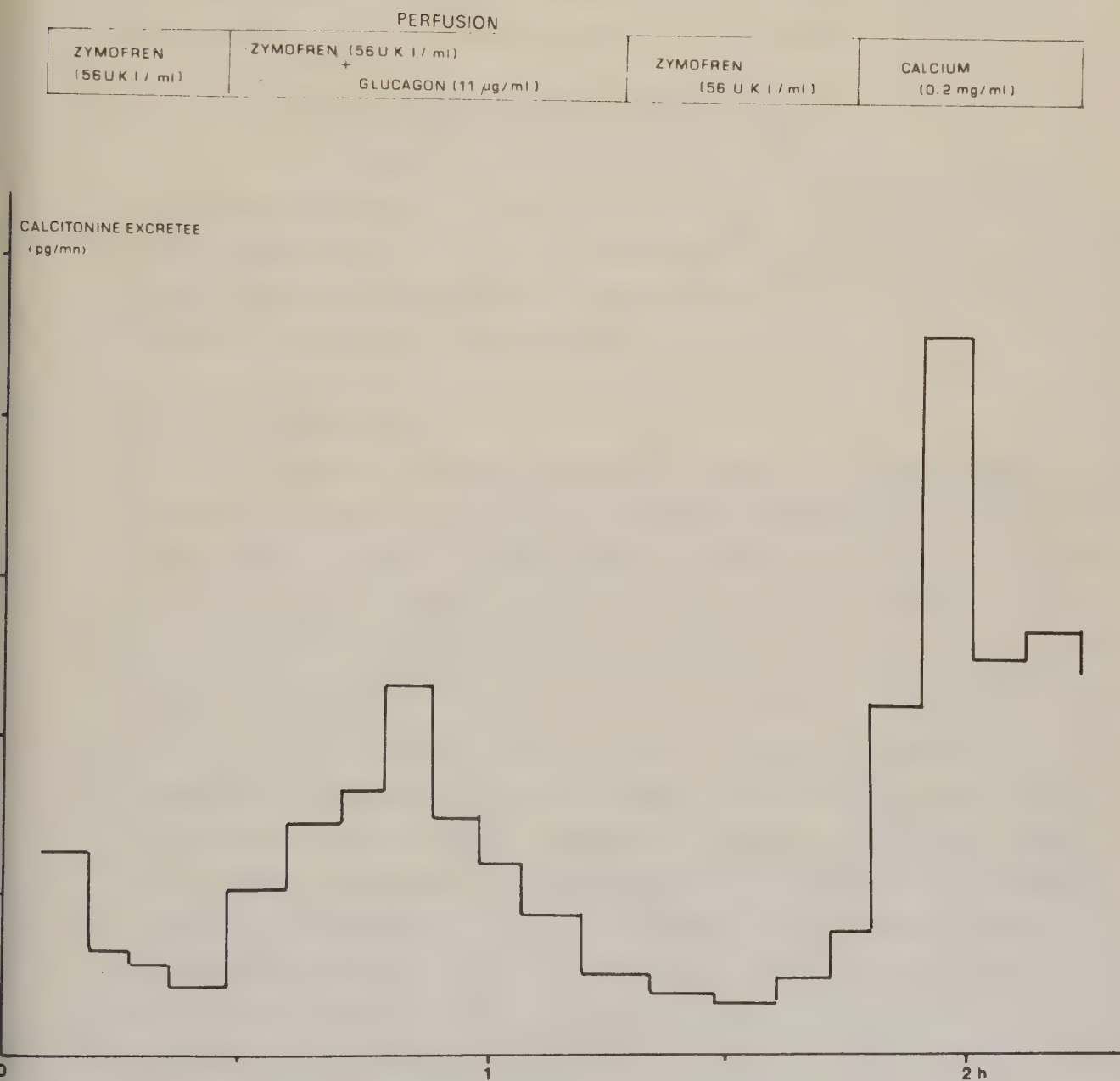


FIGURE 23 : INFLUENCE DU GLUCAGON ET DU CALCIUM SUR L'EXCRETION DE CALCITONINE PAR LA THYROIDE DE LA VACHE.



technique mise au point par R.M. LEQUIN (LEQUIN, HACKENG et SCHOPMAN, 1969).

Résultats :
.....

Comme le montre la figure 23, le glucagon, à la dose de 11 $\mu\text{g/ml}$, augmente le taux de sécrétion de calcitonine de 0,80 pg/mn à 4,60 pg/mn. Une calcémie de 20 mg/100 ml élève ce même taux de 0,75 à 8,7 pg/mn.

3 - Glucagonémie de la vache parturiente -

Si le glucagon est effectivement la cause de la décharge de calcitonine survenant à la parturition, on doit observer une élévation de la glucagonémie dans les heures précédant l'apparition de l'hypocalcémie. Nous avons donc mesuré la glucagonémie des vaches dans les jours précédant et suivant la parturition.

Matériel et méthodes :
.....

Nous avons prélevé du sang chez 5 vaches Frisonnes, quotidiennement à heure fixe (15 h) sur 5 vaches Frisonnes 72, 48 et 24 h avant la parturition, au moment même de celle-ci et 24, 48 et 72 h après. Un prélèvement a été également effectué sur 6 vaches Frisonnes au cours d'une crise d'hypocalcémie vitulaire, survenant 18 à 24 h après la mise-bas. 6 vaches de la même race, en lactation depuis 3 mois ont été utilisées comme témoins.

Chez deux vaches Jersiaises, l'une normale et l'autre ayant présenté le syndrome vitulaire 24 h après la mise-bas, nous avons prélevé du sang dans les heures précédant et suivant la parturition (figure 24). Tous ces échantillons de sang étaient prélevés dans des tubes refroidis à 4°C par un bain de glace fondante, immédiatement centrifugés à 4000 g pendant 10 mn, à 4°C. Le plasma recueilli était congelé à -20°C en vue du dosage radioimmunologique du glucagon. Celui-ci a été effectué par R. ASSAN et G. ROSSELIN (I.N.S.E.R.M.) selon une technique mise au point dans leur laboratoire (ASSAN et al., 1969) et donnant d'excellents résultats lors d'essais de récupération de glucagon bovin (ROSSELIN, 1968).

Résultats :
.....

Chez la Vache, il n'apparaît pas d'hyperglucagonémie dans les jours précédant ou suivant la parturition, ni lors des crises

d'hypocalcémie vitulaire. A aucun moment le taux de glucagon plasmatique n'est significativement différent de celui observé chez les vaches témoins (tableau 25).

Des prélèvements de sang plus rapprochés, le jour précédant et le jour suivant la parturition ne montrent pas non plus de variation significative de la glucagonémie, aussi bien chez la vache normale que chez celle atteinte d'hypocalcémie vitulaire (figure 24).

4 - Synthèse des observations relatives à l'effet hypocalcémiant du glucagon chez les Bovins

Chez la Vache, l'administration d'une dose pharmacologique de glucagon induit une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. Celles-ci sont probablement dues à une décharge de calcitonine :

- le glucagon augmente considérablement le taux d'excrétion de calcitonine chez la Vache (figure 23).
- L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie n'apparaissent pas chez la vache thyroïdectomisée supplémentée en thyroxine (figure 22).

Bien que la parturition et le syndrome vitulaire soient associés à une hyperglycémie significative, celle-ci n'est pas due à une hyperglucagonémie : l'on n'observe pas de variations significatives du taux plasmatique de glucagon dans les jours (ou dans les heures) précédant ou suivant la parturition. On sait qu'une baisse de la calcémie inhibe la sécrétion d'insuline (CURREY, BENNETT et GRODSKY, 1966). Il semble que l'hyperglycémie de la vache parturiente soit la conséquence d'une hypoinsulinémie liée à l'hypocalcémie puisque, chez les vaches présentant le syndrome vitulaire, l'injection calcique suffit à ramener l'insulinémie et la glycémie à un taux normal (LITTLEDIKE, WITZEL et WHIPP, 1968). Une décharge de glucagon de courte durée (2 à 3 h) aurait pu passer inaperçue du fait de la fréquence de nos prélèvements (figure 24). Il ne semble cependant pas qu'elle puisse, dans ce cas, déclencher une hypersécrétion prolongée de calcitonine puisque, lors de nos perfusions avec du glucagon, calcémie et phosphatémie sont revenues à leur niveau initial 4 h après la fin de la perfusion (figure 22).

La méthode utilisée pour le dosage radioimmunologique du glucagon ne permet pas de distinguer l'entéro-glucagon du glucagon pancréatique. Or celui-ci est seul capable de stimuler l'adénylcyclase (UNGER et col., 1968), donc la sécrétion de calcitonine (CARE et GITELMAN, 1968). Une diminution du taux plasmatique de

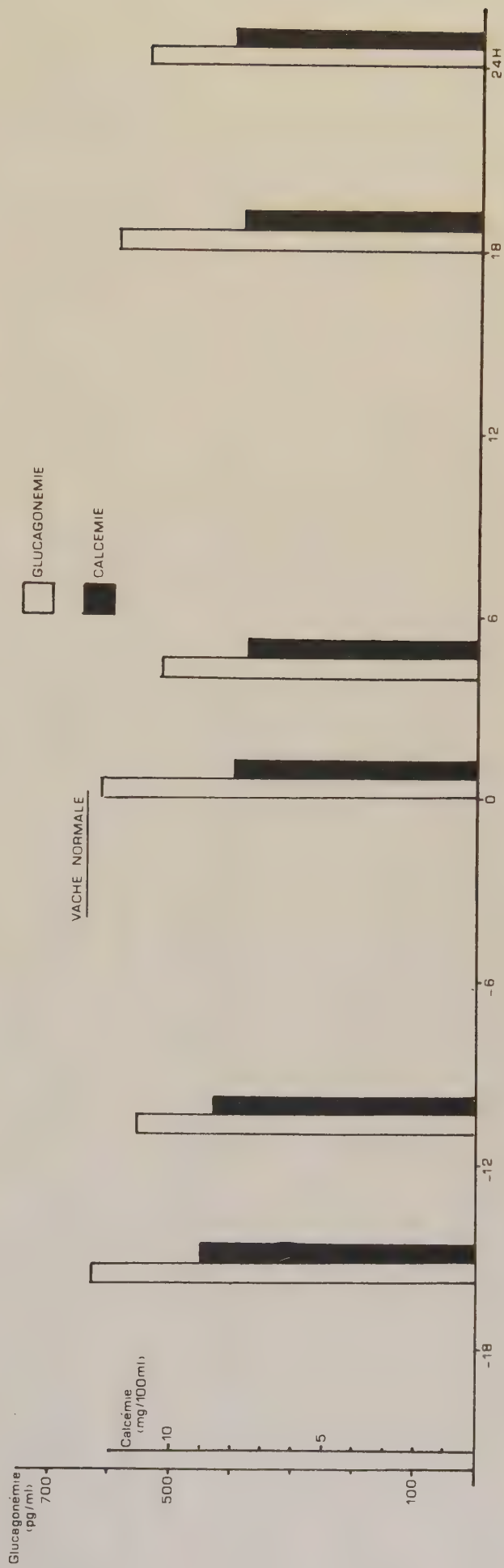
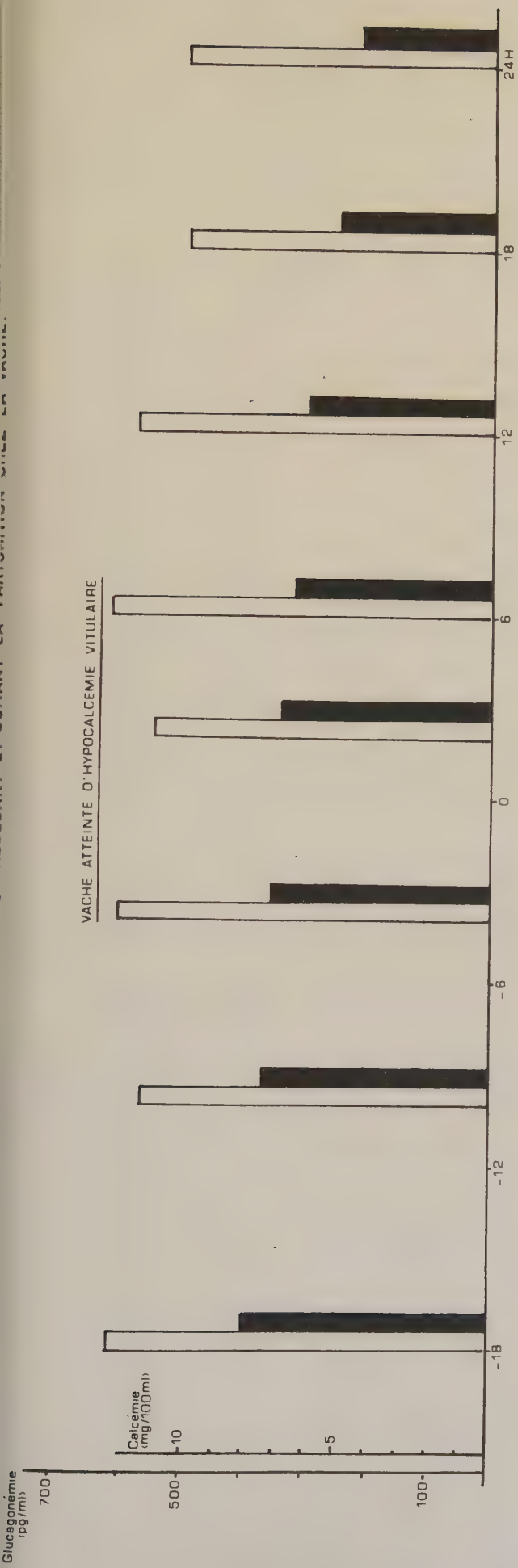


TABLEAU 25 : GLUCAGONEMIE DE LA VACHE DANS LES JOURS PRECEDANT ET SUIVANT LA PARTURITION

Date de prélèvement (j)	- 3 (3)	- 2 (5)	- 1 (4)	0 (5)	+ 1 (4)	+ 2 (5)	+ 3 (5)	Hypocalcémie vitulaire (6)	Témoins * (6)
Ca (mg/100 ml)	10,10 ± 0,29	9,80 ± 0,18	9,23 ± 0,30	7,82 ± 0,47	8,22 ± 0,32	8,40 ± 0,25	8,73 ± 0,38	4,80 ± 0,70	10,02 ± 0,15
Glucose (g/l)	0,68 ± 0,05	0,78 ± 0,16	0,83 ± 0,09	1,00 ± 0,11	0,77 ± 0,06	0,68 ± 0,01	0,71 ± 0,07	1,05 ± 0,09	0,66 ± 0,10
Glucagon (pg/ml)	538,75 ± 40,33	600,00 ± 94,20	600,13 ± 78,00	624,00 ± 199,20	612,00 ± 55,60	627,00 ± 20,90	627,00 ± 60,80	602,50 ± 101,40	600,20 ± 100,35

* Vaches en lactation depuis 3 mois

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de dosages.

l'entéro-glucagon associée à une élévation de celui du glucagon pancréatique n'aurait donc pas été décelée par le dosage utilisé. Cette éventualité paraît peu probable : chez la Vache les quantités consommées diminuent dans les jours précédant et suivant la parturition (MOODIE et ROBERTSON, 1961 ; JOURNET et DEMARQUILLY, 1968). Or, chez l'Homme, le jeûne, plus ou moins prolongé, induit une élévation significative du taux plasmatique du glucagon pancréatique (AGUILAR-PARADA, EISENTRAUT et UNGER, 1968).

A notre connaissance, aucune étude n'avait été réalisée jusqu'à présent sur la glucagonémie des Bovins. Il semble cependant qu'elle soit voisine de celle du Mouton (200 - 1000 pg/ml) (MANN, 1969).

En conclusion, le glucagon paraît capable d'induire une hypocalcémie et une hypophosphatémie significative chez la Vache, comme chez la Brebis (BALLEZ, 1969c). Celles-là résultent probablement d'une hypersécrétion de calcitonine déclenchée par le glucagon. Cependant la décharge de calcitonine survenant à la parturition ne semble pas due au glucagon puisque l'on observe pas de variations significatives de la glucagonémie chez la Vache, avant ou après la parturition.

0

0

0

CHAPITRE IV

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR LA SECRETION DE CALCI-

TONINE CHEZ LES RUMINANTS

Pour étudier l'influence de ces facteurs sur la sécrétion de calcitonine chez le Ruminant nous avons dû, la plupart du temps, observer leur effet sur la calcémie et la phosphatémie de l'animal normal et sur celles de l'animal thyroïdectomisé et supplémenté en thyroxine. L'induction d'une hypocalcémie et d'une hypophosphatémie chez le premier seulement, peut être considéré comme résultant d'une décharge de calcitonine, puisque chez le Ruminant, la thyroïde est la seule glande synthétisant l'hormone (LEQUIN et col., 1970).

Nous avons ainsi observé l'influence de divers facteurs pouvant logiquement jouer un rôle dans le syndrome vitulaire (vitamine D, magnésium, catécholamines, insufflation mammaire) et de certains bloqueurs adrénergiques .

A - HYPERCALCEMIE PROVOQUEE PAR LA VITAMINE D

Bien qu'une hypercalcémie ne semble pas être la cause de la décharge de calcitonine survenant chez la vache parturiente, il était intéressant de voir quelle pouvait être l'influence d'une hypercalcémie prolongée sur la teneur en calcitonine de la thyroïde et du plasma chez les Bovins.

Matériel et méthodes :

3 vaches Jersiaises A, B, C tarées, non gestantes, âgées respectivement de 12, 15 et 13 ans et pesant 270, 287 et 276 kg ont été utilisées pour cette expérimentation. Les animaux A et B ont reçu quotidiennement, pendant 14 jours, 10 millions d'unités internationales de vitamine D₃ (VITOCETOL - PROLIGO) par voie intramusculaire. Le 3ème animal a reçu quotidiennement pendant le même temps, de la même façon, le même volume de solvant (4 ml). Les 3 animaux ont été abattus le 14ème jour du traitement, et les thyroïdes ont été prélevées pour le dosage biologique de la calcitonine. La calcémie, la phosphatémie ont

TABEAU 26 : EFFET DE L'ADMINISTRATION QUOTIDIENNE DE VITAMINE D SUR LA CALCÉMIE, LA PHOSPHATÉMIE ET LA CALCITONINÉMIE DE LA VACHE.

JOURS	TRAITEES						TEMOINS					
	A			B			C					
	Ca	P	CT	Ca	P	CT	Ca	P	CT	Ca	P	CT
- 7	9,82	5,23	0	9,71	4,82	0	10,03	4,97	0			
0	9,90	5,39	0	9,68	4,90	0	9,79	4,83	0			
+ 7	10,64	5,82	1,4	10,57	5,49	0	10,04	4,78	0			
+ 14	12,98	6,43	2,3	12,64	6,21	2,4	10,00	4,73	0			

* mg/100 ml

** mU/ml

Il semble donc que, chez la Vache, comme chez le Rat (ERICSON, 1967 ; GITTES, TOVERUD et COOPER, 1967 ; FRANKEL et YASUMURA, 1971) l'hypercalcémie induite par la vitamine D s'accompagne d'une excrétion accrue de calcitonine. Celle-ci se manifeste par une élévation de la teneur en calcitonine du plasma associée à une diminution de la concentration thyroïdienne en calcitonine.

B - MAGNESIUM

Comme nous l'avons montré dans la première partie de ce travail, chez la Vache, la parturition est associée à une hypermagnésiémie, généralement plus accentuée dans les cas d'hypocalcémie vitulaire.

On pouvait supposer que cette hypermagnésiémie intervenait dans la décharge de calcitonine survenant à ce stade physiologique. Nous avons donc observé l'effet d'une hypermagnésiémie induite expérimentalement sur la calcémie du Bovin normal ou thyroïdectomisé.

Matériel et méthodes :

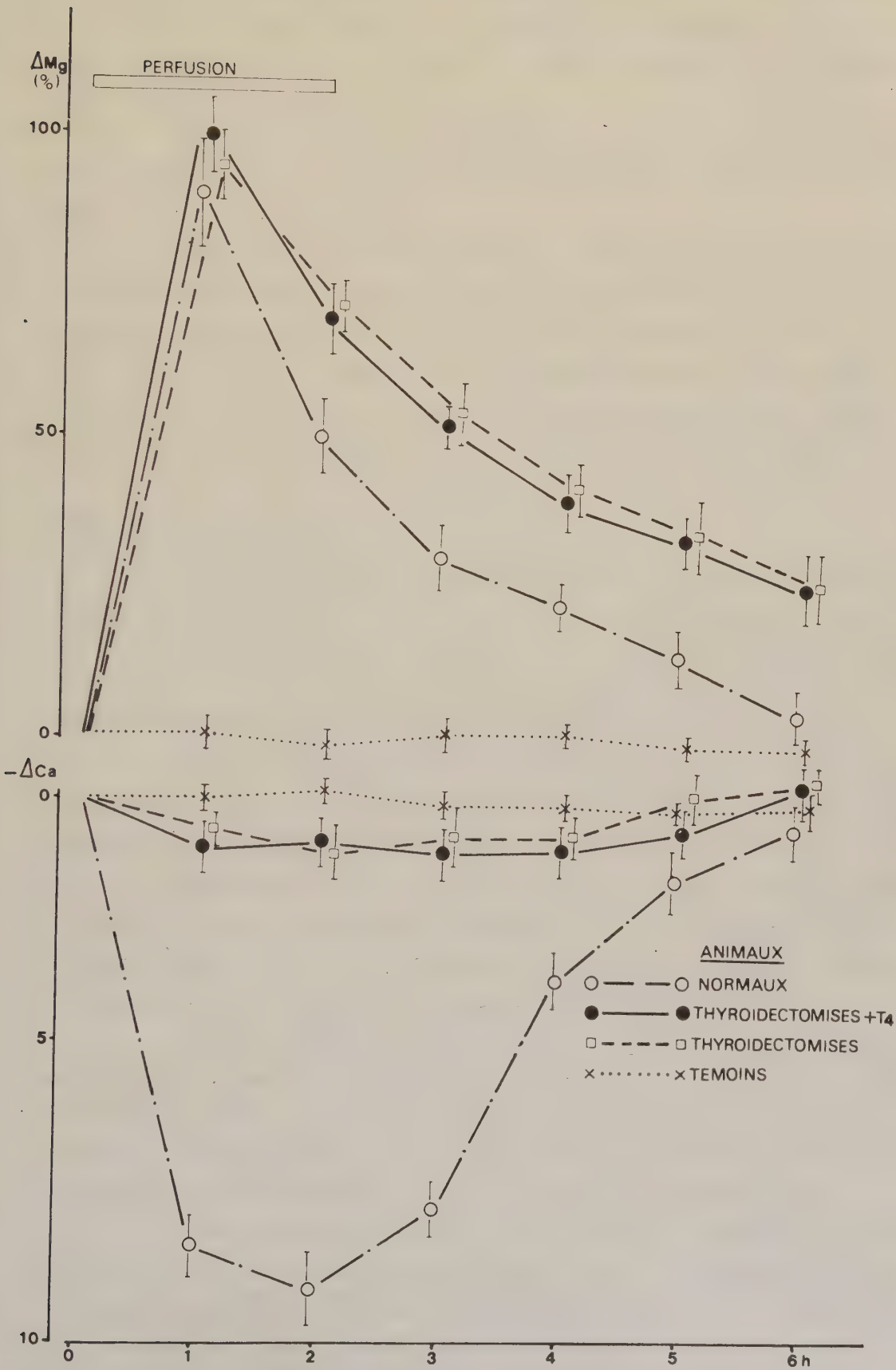
2 bouvillons Jersiais de 36 mois, pesant 360 ± 1 kg, et 3 vaches Jersiaises de 6 ans, tarées, pesant 330 ± 2 kg ont été utilisées pour cette expérimentation.

4 animaux ont reçu pendant 2 h une perfusion intraveineuse de $\text{Cl}_2 \text{ Mg}$ (6 mg de Mg/kg/h). 2 témoins (1 Bouvillon et 1 Vache) ont reçu pendant le même temps le même volume (200 ml) de solvant. 10 jours après cette perfusion 1 bouvillon et 3 vaches furent thyroïdectomisés chirurgicalement. Ils reçurent la même perfusion de $\text{Cl}_2 \text{ Mg}$ 14 jours après thyroïdectomie sans aucune supplémentation en thyroxine. 3 jours après cette deuxième perfusion ces 4 animaux furent supplémentés quotidiennement en T_4 (THYROXINE - ROCHE) par voie intramusculaire ($30 \mu\text{g/kg/j}$), pendant 7 jours, et reçurent à nouveau une perfusion analogue de $\text{Cl}_2 \text{ Mg}$. 1 vache thyroïdectomisée, supplémentée ou non en T_4 , fut utilisée comme témoin au cours des 2ème et 3ème perfusions.

Résultats :

Chez les animaux normaux, la perfusion de magnésium induit une baisse significative de la calcémie. Cette baisse est maximum à la fin de la perfusion ($\Delta \text{Ca} = - 1,17 \pm 0,15$ mg/100 ml), mais elle

FIGURE 25: EFFET D'UNE PERFUSION DE CHLORURE DE MAGNESIUM SUR LA CALCÉMIE ET LA MAGNÉSÉMIE DES BOVINS.



est significative dès 1 h après le début de la perfusion ($P < 0,01$) et 1 h après la fin de celle-ci ($P < 0,05$) (figure 25). Les variations de la phosphatémie sont parallèles à celles de la calcémie. La baisse la plus importante de la phosphatémie survient à la fin de la perfusion ($\Delta P = 1,39 \pm 0,23$ mg/100 ml).

Chez les animaux thyroïdectomisés, supplémentés ou non en T_4 , on n'observe ni hypocalcémie ni hypophosphatémie significatives (figure 25).

Chez les 3 groupes d'animaux, l'administration de Cl_2 Mg induit une hypermagnésiémie ($\Delta Mg = + 2,10 \pm 0,31$ mg/100 ml) hautement significative ($P < 0,01$). Celle-ci est significativement plus prolongée ($P < 0,01$) chez les animaux thyroïdectomisés que chez les animaux normaux. La supplémentation en T_4 n'a aucun effet significatif sur la durée de l'hypermagnésiémie chez les thyroïdectomisés (figure 25).

Discussion et conclusions :

Notre expérimentation n'exclut pas la possibilité d'une inhibition de l'excrétion de parathormone consécutive à l'élévation de la magnésiémie (SHERWOOD et col., 1966 ; MASSRY, COBURN et KLEEMAN, 1970). Mais l'effet de cette inhibition devrait être très réduit puisque seules les parathyroïdes inférieures persistent chez nos animaux.

L'hypophosphatémie associée à l'hypocalcémie observée chez les animaux ayant une thyroïde intacte laisse penser que l'hypocalcémie est due à une décharge de calcitonine. Des résultats analogues ont déjà été observés chez le Rat (RADDE et col., 1968) et chez le Chat (NIELSEN, 1970). De plus une élévation de la teneur en magnésium du milieu où sont cultivés des fragments thyroïdiens in vitro, accroît la teneur en calcitonine du milieu (RADDE et col., 1970).

Ainsi pourrait s'expliquer l'hypocalcémie associée à l'hypermagnésiémie observée chez certaines brebis laitières en Israël (EGYED et DELANGE, 1967). De même, l'hypermagnésiémie plus ou moins accentuée survenant chez la vache parturiente (Tableaux 2 et 3) pourrait induire la décharge de calcitonine survenant à ce stade physiologique.

Cette hypermagnésiémie, bien qu'étant en corrélation négative significative avec l'hypocalcémie observée ($r = - 0,516$ pour 20 D.L.) ne semble cependant pas être la cause principale de cette décharge de calcitonine. En effet, dans le syndrome vitulaire, la magnésiémie dépasse rarement 3 mg/100 ml, soit une hypermagnésiémie de l'ordre de 50 %. Or, dans ce cas, la calcémie s'abaisse de plus de 50 %. Mais,

dans notre expérimentation une élévation de 100 % de la magnésiémie ne produit qu'une baisse de la calcémie de l'ordre de 10 %. Il faut cependant remarquer que nous avons utilisé des bouvillons et des vaches taries et que la baisse de la calcémie aurait sans doute été plus importante chez des vaches en lactation. Mais il est impossible de maintenir une lactation élevée chez des vaches thyroïdectomisées, même après supplémentation en T_4 .

La raison pour laquelle l'hypermagnésiémie est significativement plus prolongée chez les animaux thyroïdectomisés est actuellement impossible à expliquer. Une observation analogue a été effectuée chez le Rat (RADDE et col., 1968), alors que, chez le Chat, la thyroïdectomie ne modifie pas significativement la durée de l'hypermagnésiémie (NIELSEN, 1970). Bien que la triiodothyronine soit hypomagnésiémiante chez le Mouton (CARE, 1969), le déficit de T_3 endogène ne semble pas responsable de la durée de l'hypermagnésiémie puisque la magnésiémie des animaux n'est pas significativement différente avant ($2,14 \pm 0,24$ mg/100 ml) et après thyroïdectomie ($1,97 \pm 0,13$ mg/100 ml).

C - IODE ET ANTITHYROÏDIENS

Chez le Rat, la thyroxine paraît potentialiser l'effet hypocalcémiant de la calcitonine, probablement en stimulant le métabolisme osseux (MILHAUD et col., 1967 ; COLLIGNON et col., 1970). Néanmoins les relations entre cellules C et cellules folliculaires sont encore très mal connues et souvent contradictoires (ALIPOULIOS et MUNSON, 1965 ; DUNCAN et CARE, 1966 ; YASUMURA et col., 1967). Aussi avons-nous essayé d'étudier l'influence de l'iode et des crucifères (qui contiennent un antithyroïdien, la 5-vinyl-2 thiooxazolidine, (PITT-RIVERS, 1950) sur les taux thyroïdien et plasmatique de calcitonine chez la Vache et chez la Brebis.

Matériel et méthodes :

Une vache Jersiaise de 11 ans, en fin de lactation, non gestante, d'un poids de 248 kg, a reçu quotidiennement, pendant 14 jours 50 g de caséine iodée par voie orale. Une vache témoin de même âge, pesant 254 kg, a reçu pendant le même temps et de la même façon, 50 g de caséine. Les 2 animaux ont été abattus le 15ème jour, et leurs thyroïdes ont été prélevées pour le dosage biologique de la calcitonine.

La calcémie et la phosphatémie des animaux ont été dosées quotidiennement du 2ème jour avant le début du traitement jusqu'à l'abattage. La calcitoninémie a été évaluée par dosage biologique sur rats le 1er et le dernier jour du traitement.

Pour tester l'influence des crucifères sur la sécrétion de calcitonine, nous avons pu disposer de 18 brebis Charmoises utilisées pour une autre expérimentation (THERIEZ, GRENET et MOLENAT, 1971). Tous les animaux recevaient du foin grossier et, 10 semaines avant l'agnelage, 9 animaux ont reçu quotidiennement 1,5 kg d'aliment concentré contenant 15 % de tourteau de colza (soit 225 g de colza/j/animal) et les 9 autres 1,5 kg d'aliment concentré contenant 15 % de tourteau de lin (soit 225 g de lin/j/animal). Tous les animaux ont été abattus dans les 24 h suivant l'agnelage. La thyroïde de chaque animal a été pesée, et après prélèvement des fragments nécessaires pour le dosage biologique de la calcitonine, les 9 thyroïdes de chaque lot d'animaux ont été broyées ensemble pour le dosage de la moniodothyrosine (MIT) et de la diiodothyrosine (DIT), selon la méthode de BLOCK et MANDL (1962) modifiée par AQUARON (1968) (Ce dosage a été effectué au laboratoire du Professeur G. MEYNIEL).

Résultats

Chez la Vache, l'ingestion de caséine iodée pendant 14 jours induit une hypocalcémie intense, associée à une élévation du taux de calcitonine plasmatique, alors que la phosphatémie est seulement légèrement abaissée (tableau 28).

Chez l'animal traité, on constate une perte de poids de 13 kg en 15 jours. A l'abattage, la thyroïde de cet animal contient moins de calcitonine que celle du témoin (tableau 29).

TABLEAU 29 : EFFET DE LA CASEINE IODEE SUR LA TENEUR EN CALCITONINE
DE LA THYROIDE DE LA VACHE

Animaux	Poids vif (kg)		Poids de la thyroïde (g)	mU de CT/g de calcitonine	mU CT/thyroïde
	initial	final			
Traité	248	235	14,0	187	2618
Témoin	254	258,5	13,4	628	8415

TABLEAU 28 : EFFET DE L'ADMINISTRATION QUOTIDIENNE DE CASEINE IODEE SUR LA CALCÉMIE, LA PHOSPHATÉMIE ET LA CALCITONINÉMIE DE LA VACHE

	- 2	0	2	4	6	8	10	12	14
Calcémie (1)	10,20	10,25	10,20	9,80	9,00	8,40	7,85	7,40	6,80
Phosphatémie (1)	6,00	5,90	5,40	5,20	5,00	4,70	4,60	4,60	4,70
Calcitoninémie (2)	-	0	-	-	-	-	-	-	2,4
Calcémie (1)	9,80	9,70	9,50	9,60	9,70	9,40	9,60	9,70	9,70
Phosphatémie (1)	6,20	6,30	6,60	6,00	5,90	5,90	5,40	5,80	6,00
Calcitoninémie (2)	-	0	-	-	-	-	-	-	0

(1) mg/100 ml
(2) mU/ml

Chez la Brebis, l'ingestion de colza pendant les dix dernières semaines de la gestation augmente significativement le poids de la thyroïde ($P < 0,05$) et le rapport du poids de la thyroïde à celui de la carcasse ($P < 0,05$). En même temps le rapport MIT/DIT des animaux nourris au colza est significativement supérieur à celui des animaux nourris au lin. La teneur en calcitonine par gramme de thyroïde est légèrement augmentée chez les animaux nourris au colza, mais la différence n'est pas significative. Par contre la thyroïde entière de ces animaux renferme significativement plus de calcitonine que celle des animaux nourris au lin ($P < 0,05$) (tableau 30).

Discussion et conclusions :

Les effets d'une supplémentation en iode n'ont été observés que sur un seul animal, ce qui ne permet pas de tirer des conclusions définitives. Néanmoins il semble que, chez le Bovin, l'administration orale d'iode pendant 14 jours induise une hyperexcrétion de calcitonine. Celle-ci se manifeste par une hypocalcémie, une élévation du taux plasmatique de calcitonine et une diminution de la teneur de la thyroïde en calcitonine. Une hypocalcémie intense, consécutive à l'ingestion prolongée de caséine iodée par la vache, a d'ailleurs déjà été signalée (KENDALL et col., 1970).

Notre expérimentation ne met pas en évidence les causes de ces variations. Il est possible qu'un hyperthyroïdisme transitoire (comme semble l'indiquer l'amaigrissement de l'animal) s'installe à la suite de l'apport d'iode. Celui-ci par l'intermédiaire d'une élévation de la thyroxine plasmatique stimulerait le catabolisme osseux (ADAMS et JOWSEY, 1967), ce qui intensifierait l'excrétion de calcitonine, entraînant ainsi une hypocalcémie. Ceci expliquerait d'ailleurs l'absence d'hypophosphatémie marquée : on peut concevoir que la thyroxine, hyperphosphatémiant chez le rat (MILHAUD et col., 1967), soit suffisante pour inhiber partiellement l'hypophosphatémie induite par la calcitonine et probablement aussi par la parathormone, stimulée par l'hypocalcémie.

Chez la Brebis, une alimentation à base de tourteau de colza pendant 10 semaines induit une augmentation significative du poids de la thyroïde associée à une augmentation de la teneur totale de la glande en calcitonine (tableau 30). Ce résultat est difficile à expliquer. CLANDININ et ROBBLE (1966) ont proposé une hypothèse pour expliquer l'effet d'une ingestion prolongée de colza sur la thyroïde. Une telle alimentation commencerait d'abord par diminuer la fixation d'iode par la thyroïde et accroître la libération d'hormones iodées. Cependant,

TABEAU 30 : INFLUENCE D'UN RÉGIME A BASE DE COLZA SUR LA TENEUR EN CALCITONINE DE LA THYROÏDE DE LA BREBIS

	Poids thyroïde Poids carcasse	Poids thyroïde (g)	MT/DIT	Ca (mg/100 ml)	CALCITONINE mU/g thyroïde mU/glande
Aliment :	:	:	:	:	:
Colza :	2,68. 10 ⁻² (9)	6,79 ± 1,92 (9)	0,91 (1)	9,89 ± 0,23 (9)	727 ± 42 (6) 4940 ± 237 (6)
Lin :	1,86. 10 ⁻² (9)	4,49 ± 1,23 (9)	0,53 (1)	9,74 ± 0,17 (9)	721 ± 93 (6) 3439 ± 129 (6)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'observations.

au bout de 3 à 4 semaines la fixation d'iode et la sécrétion hormonale par la glande hypertrophiée semblent normales. Cet équilibre serait atteint par un accroissement du poids thyroïdien par rapport au poids corporel. C'est ce que nous avons observé chez nos animaux (tableau 30). Ceci correspondrait également à l'élévation observée du rapport MIT/DIT.

La concentration en calcitonine par gramme de thyroïde n'étant pas significativement différente chez les brebis nourries au lin ou au colza, l'augmentation significative de la teneur totale de la thyroïde en calcitonine chez les brebis nourries au colza paraît due uniquement à l'accroissement significatif du poids de la glande chez celles-ci. Nous n'avons d'ailleurs pas pu mettre en évidence, en microscopie électronique, une différence entre les cellules C des animaux nourris au lin ou au colza.

D - THYREOSTIMULINE

L'administration orale de caséine iodée induisant chez la vache une hypocalcémie associée à une élévation du taux de calcitonine plasmatique, il semblait intéressant d'observer l'effet d'une administration intraveineuse de thyreostimuline sur la calcémie et la phosphatémie de l'animal.

Matériel et méthodes :

3 vaches Jersiaises de 30 mois, en lactation depuis 6 semaines pesant 257 ± 4 kg, ont été utilisées pour cette expérimentation. Après un jeûne de 16 h, les animaux ont reçu, en 2 h, 15 mg de TSH bovine par 100 kg de poids vif (NIH - TSH - B₄ ; 2,12 , unités USP/mg), dissoute dans 200 ml de sérum physiologique, maintenu à + 4°C par un bain de glace fondante. La calcémie et la phosphatémie ont été dosées sur les échantillons de plasma prélevés 2 h avant et ensuite pendant 6 h après le début de la perfusion.

Résultats :

Comme le montre le tableau 31, l'administration intraveineuse de TSH pendant 2 h n'a aucun effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie des animaux.

Discussion et conclusions :

Ce résultat confirme celui précédemment obtenu chez la brebis :

TABLEAU 31 : EFFET D'UNE PERFUSION DE TSH SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DE LA VACHE LAITIÈRE

Temps (h) :	- 2	0	0,5	1	1,5	2	3	4	5	6
Ca (mg/100ml) :	9,87 ± 0,10	9,90 ± 0,07	9,85 ± 0,11	9,92 ± 0,17	9,90 ± 0,11	9,80 ± 0,20	9,75 ± 0,18	9,78 ± 0,23	9,82 ± 0,17	9,80 ± 0,20
P (mg/100ml) :	6,04 ± 0,37	6,27 ± 0,20	6,30 ± 0,49	6,32 ± 0,41	5,97 ± 0,38	5,80 ± 0,22	5,74 ± 0,29	5,80 ± 0,31	6,00 ± 0,36	6,25 ± 0,47

* Début de la perfusion

** Fin de la perfusion

un traitement à la TSH n'a pas d'effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie de l'animal.

La TSH, à la dose utilisée, ne semble donc pas capable d'induire une décharge de calcitonine suffisante pour provoquer une hypocalcémie significative chez la vache en lactation.

D'ailleurs, chez le Porc, la TSH perfusée dans la thyroïde in situ ne provoque pas de modification significative du taux de calcitonine dans le sang efférent (GARE, BATES et GITELMAN, 1970).

Ainsi, chez les Ruminants, un hyperthyroïdisme d'une durée de plusieurs jours paraît capable de potentialiser l'hypocalcémie induite par la calcitonine (figure 19 - tableau 28), probablement en stimulant le catabolisme osseux, puisque la TSH ne paraît pas avoir d'effet significatif sur la sécrétion de calcitonine. L'ensemble de ces résultats paraît intéressant : il pourrait expliquer en partie la fréquence du syndrome vitulaire chez les animaux de race Jersiaise, du fait de l'hyperthyroïdisme propre à cette race (LONG et col., 1951 ; LEWIS et RALSTON, 1953).

E - ADRENALINE ET NORADRENALINE

L'hypocalcémie vitulaire a été considérée comme un "trouble d'adaptation", analogue au stress de SELYE (GARM, 1950). L'adrénaline, perfusée à forte dose (40 à 400 µg/kg/h) pendant plus de 3 h, induit une hypocalcémie importante (1 à 2 mg/100ml) chez la Brebis (LALVOR P., Données non publiées). Nous avons donc observé les effets de l'adrénaline et de la noradrénaline sur la calcémie de la brebis normale ou thyroïdectomisée.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 18 brebis de races diverses, âgées de 5 ans, pesant 52 ± 3 kg, ni gestantes ni en lactation. 6 avaient été thyroïdectomisées 15 jours auparavant et étaient supplémentées quotidiennement en T_4 (THYROXINE - ROCHE) (10 µg/kg/j). Toutes les perfusions ont été effectuées par voie intraveineuse et pendant 2 h. Aucun animal n'a reçu plus de 2 perfusions, et dans ce cas, elles étaient administrées à au moins 24 jours d'intervalle. Tous les animaux étaient mis à jeun 12 h avant la perfusion. Le tableau 32 indique la dose et la nature des substances testées.

TABLEAU 32 : DOSES D'ADRENALINE, DE PHENTOLAMINE ET DE PROPRANOLOL
ADMINISTREES AUX BREBIS NORMALES OU THYROIDECTOMISEES

Animaux	Produits	Dose injectée	Origine
3 N	ADRENALINE	10 µg/kg/h	Adrénaline U.V.A.
3 N 3 TX	ADRENALINE + PHENTOLAMINE	10 µg/kg/h 250 µg/kg/h	Régitine CIBA
3 N	ADRENALINE + PROPRANOLOL	10 µg/kg/h 250 µg/kg/h	Avlocardyl AVLON
3 N 3 TX	PHENTOLAMINE	250 µg/kg/h	
3 N	PHENTOLAMINE + PROPRANOLOL	10 µg/kg/h 250 µg/kg/h	
3 N 3 TX	NORADRENALINE	10 µg/kg/h	Noradrénaline U.V.A.
3 N 3 TX	NORADRENALINE + PHENTOLAMINE	10 µg/kg/h 250 µg/kg/h	

N = animal normal

TX = animal thyroïdectomisé

Résultats :

Chez la Brebis normale la perfusion d'adrénaline à dose modérée induit une légère hypocalcémie ($\Delta \text{Ca} = - 0,32 \pm 0,10 \text{ mg/100 ml}$) mais celle-ci n'est pas significative. L'effet de la phentolamine seule est analogue ($\Delta \text{Ca} = - 0,39 \pm 0,12 \text{ mg/100 ml}$). L'adrénaline associée à la phentolamine induit une hypocalcémie hautement significative dès la fin de la perfusion ($\Delta \text{Ca} = - 1,78 \pm 0,14 \text{ mg/100 ml}$) (figure 26). Dans tous les cas les variations de la phosphatémie sont parallèles à celles de la calcémie, et le rapport des activités hypocalcémiantes et hypophosphatémiantes est toujours compris entre 0,94 et 1,33.

Chez la brebis thyroïdectomisée, l'adrénaline seule ou associée à la phentolamine n'a aucun effet significatif sur la calcémie (figure 26).

Chez la brebis normale la noradrénaline induit une légère hypocalcémie ($\Delta \text{Ca} = - 0,95 \pm 0,14 \text{ mg/100 ml}$) significative ($P < 0,05$).

FIGURE 26 : EFFET DE L'ADRENALINE SUR LA CALCÉMIE DE LA BREBIS NORMALE OU THYROIDECTOMISEE.

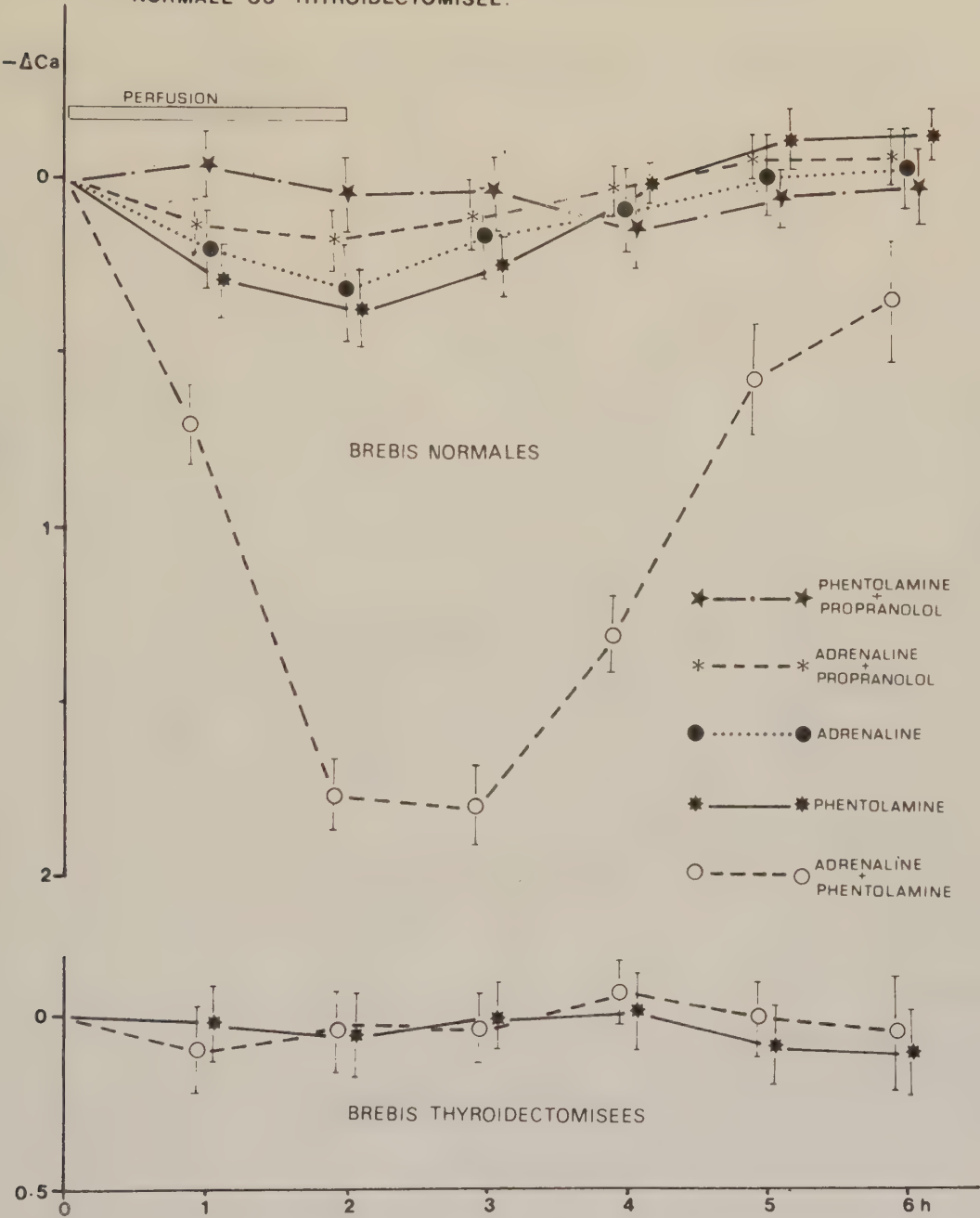
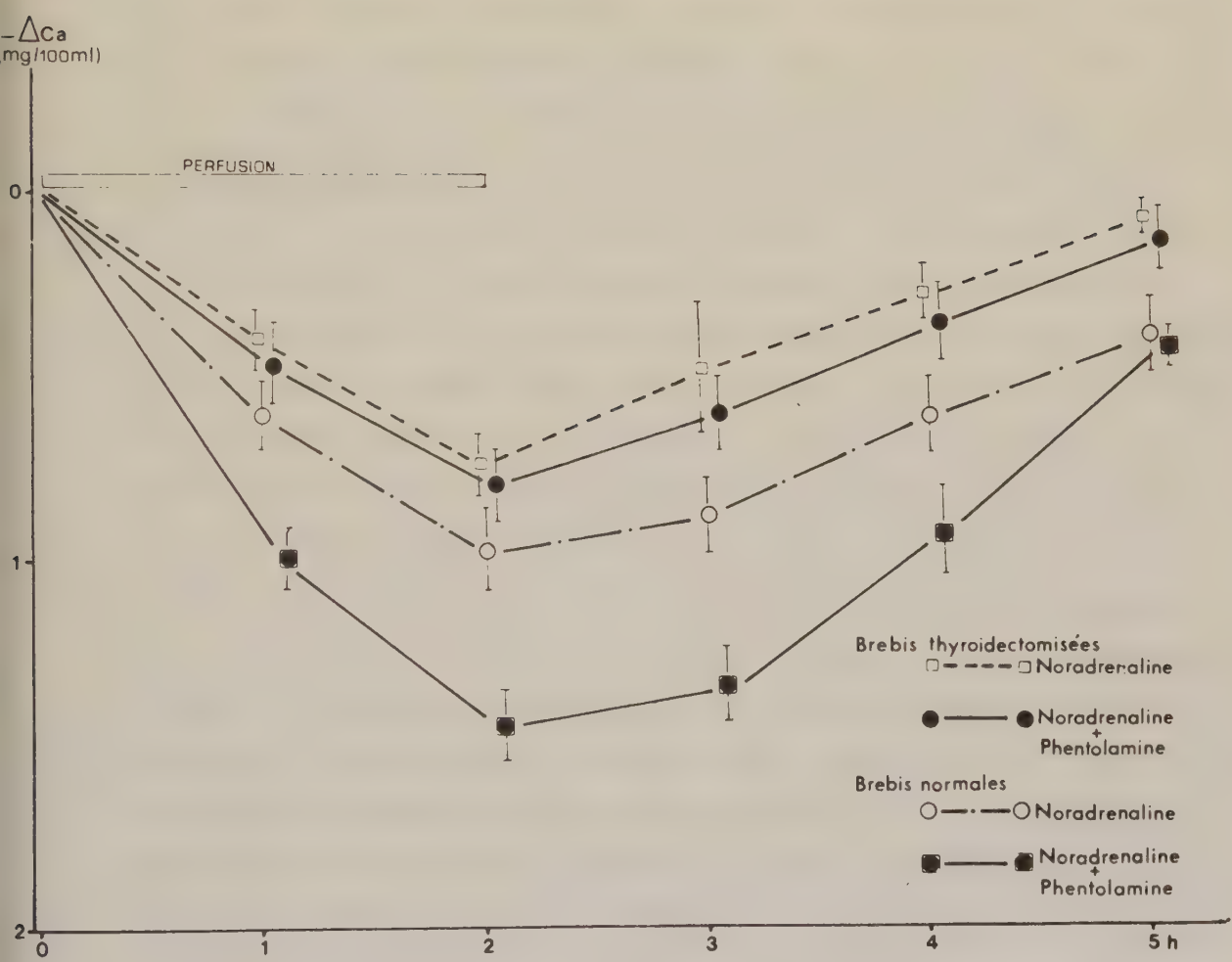


FIGURE 27 : EFFET DE LA NORADRENALINE SUR LA CALCÉMIE DE LA BREBIS NORMALE OU THYROIDECTOMISÉE.



L'hypocalcémie induite par la noradrénaline seule ou associée à la phentolamine chez la brebis thyroïdectomisée n'est pas significativement différente de celle observée avec la noradrénaline seule chez l'animal normal. Par contre, chez celui-ci, la phentolamine augmente significativement ($P < 0,05$) ($\Delta Ca = - 1,45 \pm 0,15$ mg/100 ml), l'hypocalcémie induite par la noradrénaline seule (figure 27).

Discussion et conclusions :

Comme chez le Chien (SHIM, COPP et PATTERSON, 1968), l'adrénaline seule, à faible dose, n'a pas d'effet hypocalcémiant significatif chez la Brebis. L'adrénaline associée à la phentolamine (bloqueur des récepteurs adrénergiques α) induit chez la Brebis une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives, qui ne se manifestent pas chez l'animal thyroïdectomisé supplémenté en thyroxine. Ceci semble indiquer que l'adrénaline associée à la phentolamine est capable de stimuler l'excrétion de calcitonine endogène. En effet, chez le Porc, l'adrénaline associée à la phentolamine et perfusée dans la thyroïde in situ, augmente 15 fois le taux d'excrétion de calcitonine par la glande (BATES, BRUCE et CARE, 1970). Chez la Brebis, la phentolamine associée à l'adrénaline inhibe la stimulation de l'excrétion de calcitonine observée avec l'adrénaline seule (PHILLIPPO et col., 1970). Cependant cette inhibition pourrait résulter d'un afflux sanguin diminué au niveau de la thyroïde (CARE A.D., communication personnelle).

La noradrénaline induit une légère hypocalcémie significative, aussi bien chez la brebis normale que chez la brebis thyroïdectomisée. L'effet hypocalcémiant est stimulé par la phentolamine seulement chez la brebis normale. On peut donc supposer qu'il existe un double mécanisme concernant l'action hypocalcémiante de la noradrénaline. En effet, puisque cette action persiste bien que diminuée, chez l'animal thyroïdectomisé, elle ne doit pas résulter uniquement d'une stimulation de l'excrétion de calcitonine endogène. La noradrénaline est connue pour stimuler la lipolyse. Or, chez le Lapin, celle-ci s'accompagne d'une hypocalcémie due à une élévation de la concentration calcique intracellulaire (AGKUN et RUDMAN, 1969). On peut donc supposer qu'un phénomène analogue intervienne chez la Brebis.

Le fait que l'hypocalcémie soit potentialisée de façon significative par la phentolamine, mais seulement chez l'animal normal, semble indiquer que l'effet β de la noradrénaline, comme celui de l'adrénaline, peut aussi stimuler l'excrétion de la calcitonine endogène. L'effet hypocalcémiant de la noradrénaline a déjà été signalé chez le Mouton (LUTHMAN, 1970). Cependant contrairement à cet auteur, qui utilisait

des brebis en fin de gestation et une dose d'adrénaline de $1 \mu\text{g/kg/mn}$ pendant 8 h, nous n'avons jamais observé à la fin de nos perfusions une calcémie de l'ordre de $5 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ associée à une parésie de l'animal. Chez une agnelle Limousine de 2 ans, gestante de 3 mois nous avons effectué une perfusion de noradrénaline de $1 \mu\text{g/kg/mn}$, pendant 8 h : celle-ci a provoqué une baisse de la calcémie de seulement $1,25 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, associée à aucune manifestation clinique.

Les observations précédentes semblent indiquer que, chez le Mouton, la stimulation des récepteurs adrénergiques β des cellules C, est capable de provoquer une décharge de calcitonine endogène, même en l'absence d'hypercalcémie. Des observations analogues ont d'ailleurs été rapportées à propos de la sécrétion de calcitonine par le corps ultimobranchial de la Poule (ZIEGLER, DELLING et PFEIFFER, 1970).

F - THEOPHYLLINE

La stimulation de l'excrétion de calcitonine par le glucagon ou l'adrénaline pourrait s'effectuer par l'intermédiaire du 3'-5' adénosine monophosphate cyclique (AMP cyclique), puisque la plupart des effets métaboliques du glucagon et des catécholamines sont induits par le "second messenger hormonal", l'AMP cyclique (ROBINSON, BUTCHER et SUTHERLAND, 1968). Selon cette théorie (SUTHERLAND, ØYE et BUTCHER, 1965), une hormone (1er messenger) est libérée et transportée jusqu'à l'organe cible. Au niveau des membranes cellulaires de celui-ci elle va activer un enzyme, l'adényl-cyclase, lequel va intensifier la formation d'AMP cyclique à partir de l'ATP ; c'est le taux d'AMP cyclique intracellulaire ("second messenger") qui va régler la synthèse et la libération des enzymes induisant la réponse physiologique (figure 28). Or le taux d'AMP cyclique intracellulaire peut être diminué par les phosphodiésthérases stimulant la dégradation du 3'-5' AMP en 5' AMP (figure 28). La théophylline étant un inhibiteur de ces phosphodiésthérases (SUTHERLAND et ROBINSON, 1966), il était intéressant de voir si elle avait un effet significatif sur la calcémie de la Brebis.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 12 brebis de race Ravat, âgées de 3 ans, pesant $52 \pm 3 \text{ kg}$, ni gestantes ni en lactation. 3 avaient été thyroïdectomisées (TX) 11 jours avant l'expérimentation et supplémentées quotidiennement en thyroxine ($10 \mu\text{g/kg/j}$).

FIGURE 28 : INTERPRETATION SCHEMATIQUE DE LA THEORIE DU "SECOND MESSENGER".
(SUTHERLAND et col., 1965).

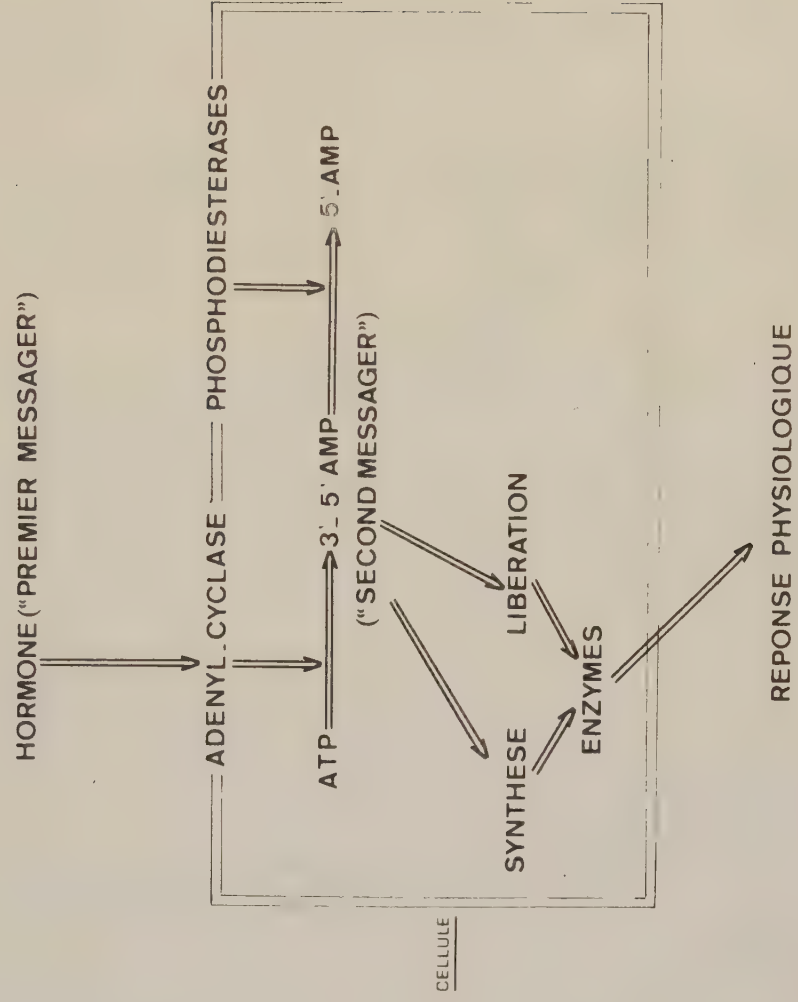


FIGURE 29 : EFFET DE LA THEOPHYLLINE SUR LA CALCÉMIE ET LA PHOSPHATÉMIE DE LA BREBIS.

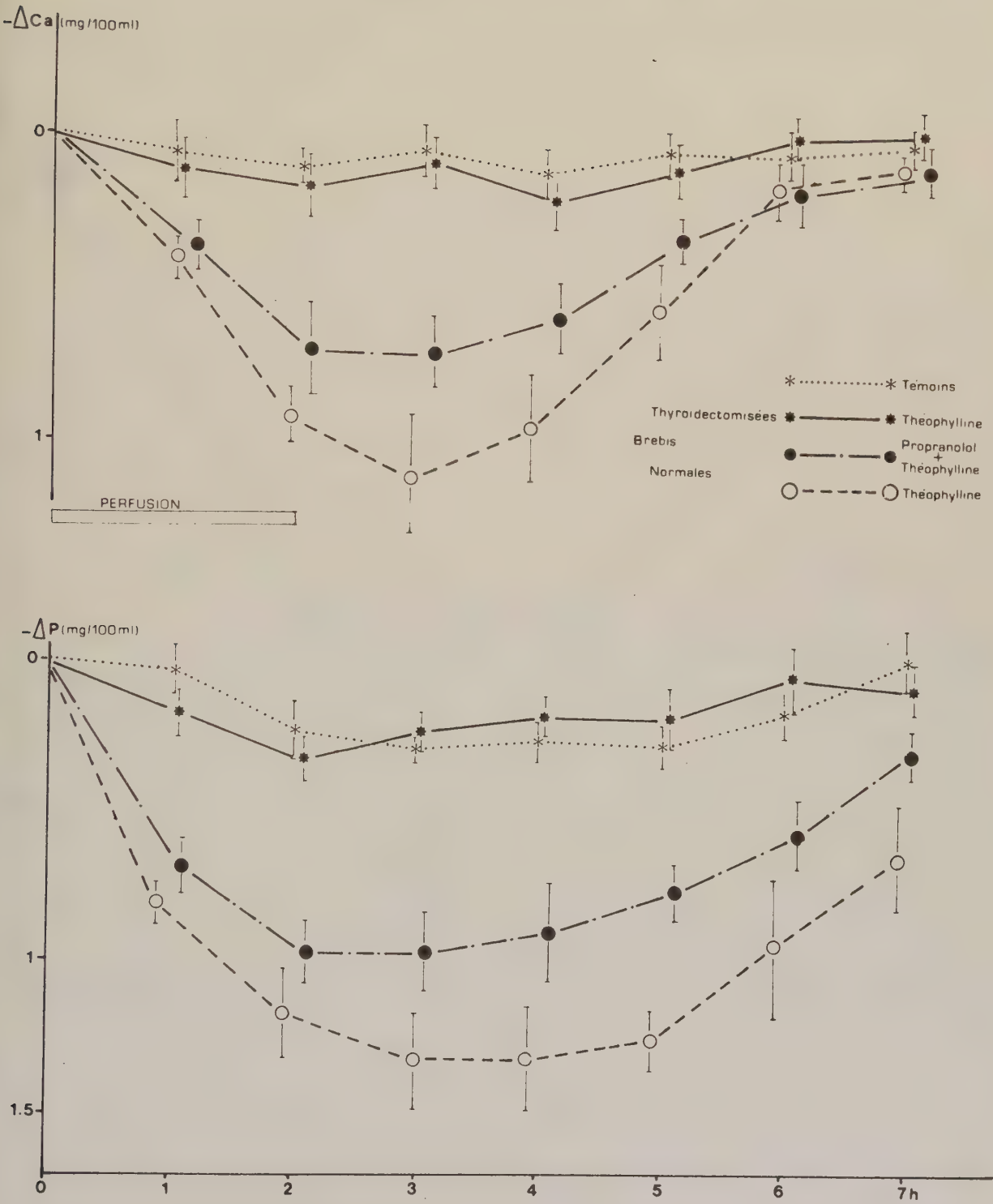
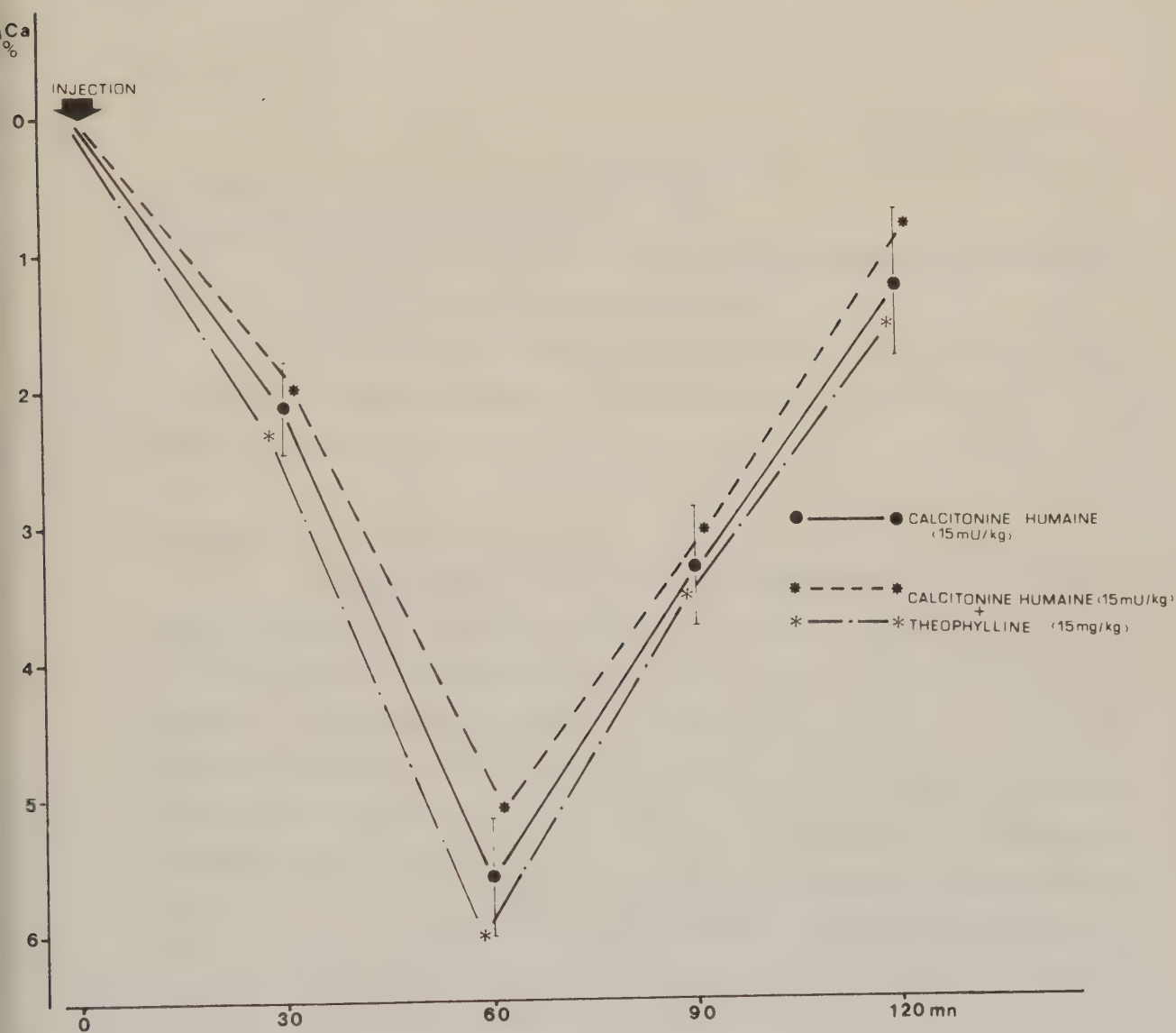


FIGURE 30: INFLUENCE DE LA THEOPHYLLINE SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE HUMAINE SYNTHETIQUE CHEZ LA BREBIS.



Après un jeûne de 12 h, 9 animaux (6 normaux et 3 TX) ont reçu pendant 2 h une perfusion intraveineuse de théophylline (15 mg/kg/h) précédée chez 3 animaux normaux d'une injection intraveineuse de propranolol (500 µg/kg).

La théophylline était dissoute dans du sérum physiologique amené à pH = 10 par addition de soude. 3 brebis témoins ont reçu le même volume de solvant (200 ml) au même pH.

Résultats :

Chez la Brebis, la théophylline induit une hypocalcémie et une hypophosphatémie hautement significative ($P < 0,01$) dès la fin de la perfusion, et persistant pendant 3 h.

Cette hypocalcémie et cette hypophosphatémie ne se manifestent pas chez les animaux thyroïdectomisés.

Le propranolol inhibe partiellement, mais de façon non significative, l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induites par la théophylline (figure 29).

Discussion et conclusions :

L'hypocalcémie induite par la théophylline pourrait éventuellement résulter de l'inhibition de la sécrétion parathyroïdienne : dans ce cas, on voit mal comment elle pourrait être associée à une hypophosphatémie. La théophylline étant un diurétique puissant, l'hypocalcémie pourrait résulter d'une hypercalciurie, mais l'hypocalcémie devrait alors aussi apparaître chez les animaux thyroïdectomisés. De plus la théophylline, bien qu'augmentant le volume d'urine émise, n'augmente que très légèrement l'excrétion urinaire du calcium et du magnésium chez la Brebis (LARVOR P. et RAYSSIGUIER Y., données non publiées).

Certains travaux font état d'une inhibition par la théophylline de l'hypocalcémie induite chez le Rat par la calcitonine porcine purifiée (WELLS et LLOYD, 1968). Contrairement à cela, la théophylline ne modifie pas l'hypocalcémie induite chez le même animal par la calcitonine porcine synthétique (MAC INTYRE, 1970). Il semble d'ailleurs en être de même chez la Brebis : chez 2 brebis une injection de 10 mg/kg de théophylline ne modifie pas significativement l'hypocalcémie induite par 15 mU/kg de calcitonine humaine M synthétique, comparativement à 3 témoins ayant reçu seulement la même dose de la même calcitonine (figure 30). Ces observations montrent que l'hypocalcémie induite par

la théophylline ne doit pas résulter d'une action directe au niveau de l'os.

Puisque l'hypocalcémie n'apparaît pas chez l'animal thyroïdectomisé et qu'elle est associée à une hypophosphatémie d'intensité analogue ($\Delta \text{Ca}/\Delta \text{P} = 1,18$ à la fin de la perfusion), il est logique de penser que celles-ci pourraient résulter d'une excrétion accrue de calcitonine. En effet, in vivo (CAKE et GITELMAN, 1968) comme in vitro (BELL, 1970), la théophylline peut stimuler l'excrétion de calcitonine par la thyroïde.

Notre expérimentation ne permet pas de définir le mécanisme de cette stimulation. La théophylline étant un inhibiteur des phosphodiesterases, il semble que cette stimulation puisse avoir lieu par l'intermédiaire de l'AMP cyclique.

G - FRAMYCETINE

Divers facteurs autres que l'hypercalcémie paraissent donc capables de stimuler l'excrétion de calcitonine chez le Ruminant. Nous rapporterons ici l'effet de la Framycétine sur la calcémie et la phosphatémie de la brebis normale ou thyroïdectomisée. Certains antibiotiques s'étant révélés hypocalcémiant chez l'Homme (RYAN, SCHWARTZ et NORTHROP, 1969), il était intéressant de vérifier leur action sur la calcémie des Ruminants.

Matériel et méthodes :

Nous avons utilisé 28 brebis âgées de 4 à 5 ans, tarées ou en fin de lactation, non gestantes, d'un poids de 49 ± 3 kg. Toutes les perfusions ont été administrées en 2 h, par voie intraveineuse, après un jeûne de 12 h. 4 brebis, thyroïdectomisées 17 jours avant la perfusion, étaient supplémentées quotidiennement en T_4 ($10 \mu\text{g/kg/j}$). Le tableau 33 indique le nombre d'animaux normaux (N) ou thyroïdectomisés (TX) utilisés, ainsi que la nature des traitements.

Résultats :

Chez la brebis la framycétine induit une hypocalcémie hautement significative ($P < 0,01$) à la fin de la perfusion ($\Delta \text{Ca} = - 1,12 \pm 0,13 \text{ mg}/100 \text{ ml}$). Cette hypocalcémie disparaît chez l'animal thyroïdectomisé ou recevant du propranolol en même temps que la framycétine.

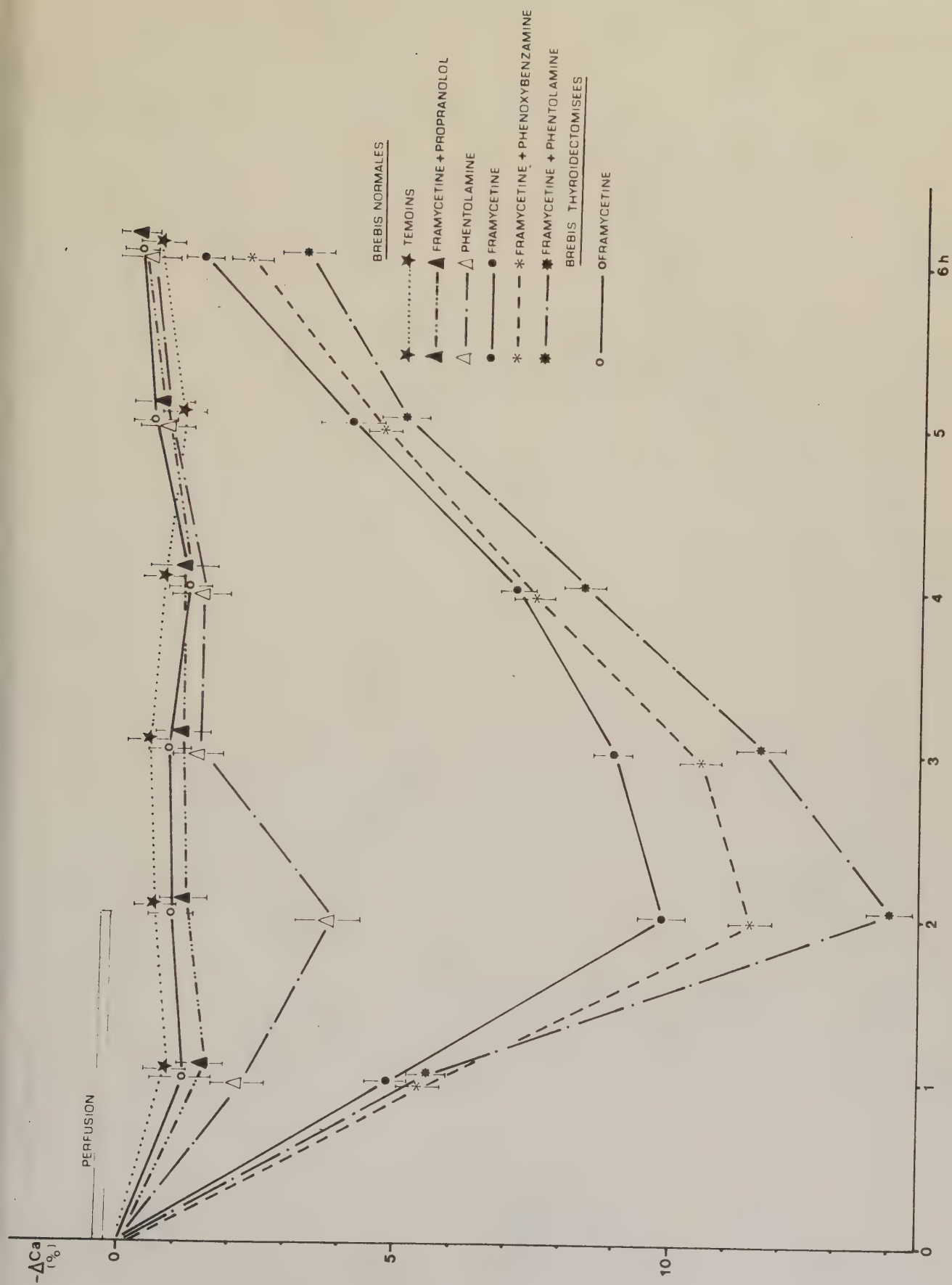
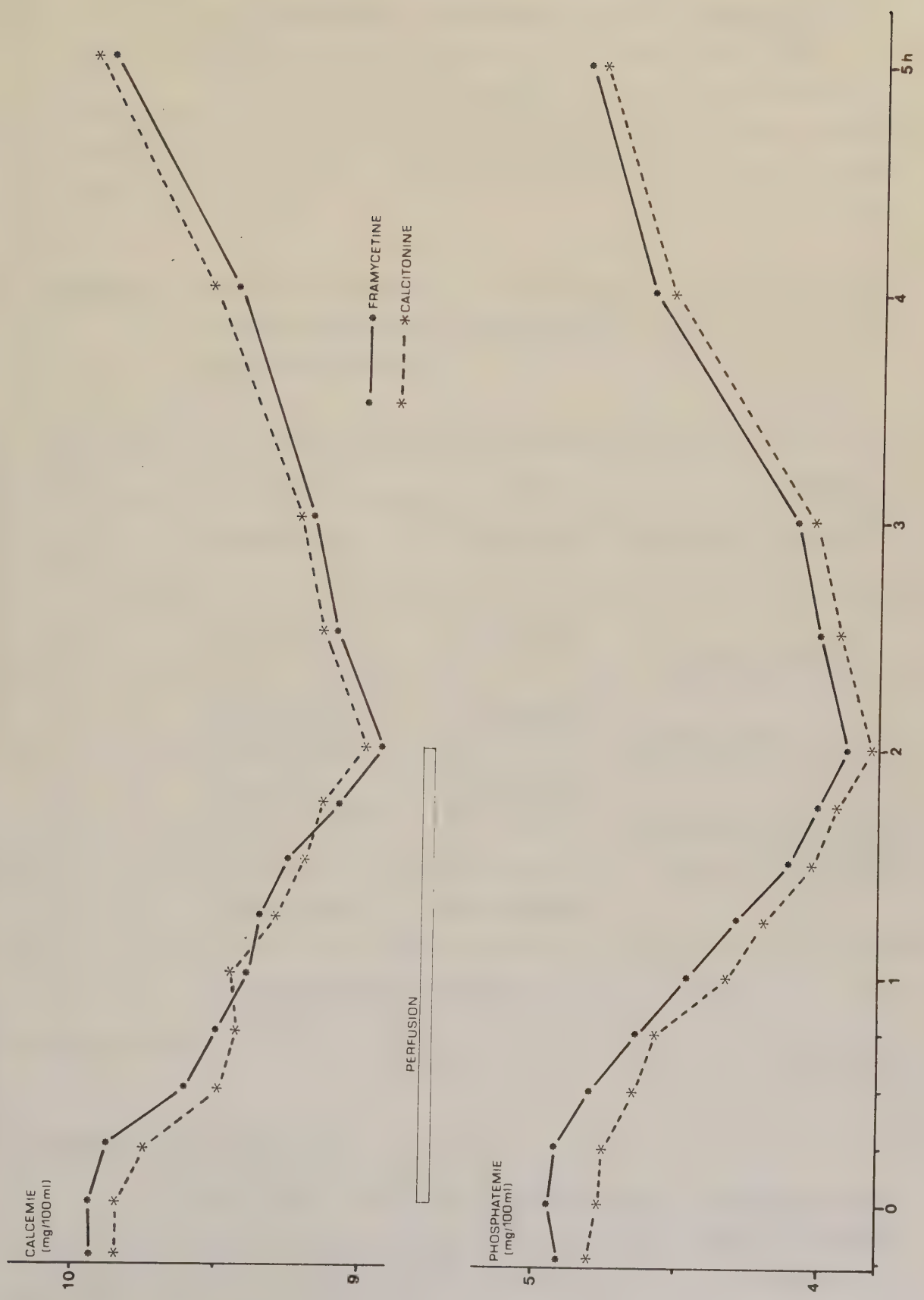


FIGURE 32 : COMPARAISON DE L'HYPOCALCEMIE & DE L'HYPOPHOSPHATEMIE INDUITES PAR LA CALCITONINE (1500 mU MRC) & LA FRAMYCETINE (1900 mg) CHEZ 2 BREBIS.



Par contre l'addition d'un bloqueur des récepteurs adrénérgiques α (phentolamine ou phenoxybenzamine) au perfusat intensifie la baisse de la calcémie induite par la streptomycine. Cette intensification est significative avec la phentolamine ($P < 0,05$) (figure 31).

Les variations de la phosphatémie sont rigoureusement parallèles à celles de la calcémie (figure 32) et le rapport des activités hypocalcémiantes et hypophosphatémiantes est toujours compris entre 0,87 et 1,31.

TABEAU 33 : DOSES DE FRAMYCÉTINE, DE PROPRANOLOL, DE PHENTOLAMINE ET DE PHENOXYBENZAMINE ADMINISTREES AUX BREBIS NORMALES OU THYROIDECTOMISEES.

Animaux	Traitement	Dose	Origine
6 N 4 TX	Framycétine	20 mg/kg/h	Framycétine DECARIS
3 N	Framycétine + Propranolol	20 mg/kg/h 250 μ g/kg/h	Avlocardyl AVLON
3 N	Framycétine + Phentolamine	20 mg/kg/h 250 μ g/kg/h	Régitine CIBA
3 N	Framycétine + Phenoxybenzamine	20 mg/kg/h 250 μ g/kg/h	Dibenzylène SMITH KLINE and FRENCH
3 N	Phentolamine	250 μ g/kg/h	
3 N 3 TX	Sérum physiologique 150 ml (Témoins)		

Discussion et conclusions :

La framycétine induit chez la brebis normale une hypocalcémie et une hypophosphatémie qui n'apparaissent pas chez la brebis thyroïdectomisée. Des faits analogues ont été rapportés chez le Rat (GALANTE et al., 1970). Il semble donc, puisque l'hypocalcémie est associée à une hypophosphatémie d'intensité comparable, et puisque l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie n'apparaissent pas chez l'animal thyroïdectomisé, que

celles-ci puissent être attribuées à une décharge de calcitonine. D'ailleurs, comme pour l'effet hypocalcémiant de la streptomycine chez le Rat (GALANTE et col., 1970), chez la brebis celui de la framycétine et de la calcitonine exogène sont tout à fait analogues (figure 32).

L'action hypocalcémiante d'un autre antibiotique, la mithramycine, a déjà été utilisée dans le traitement de la maladie de Paget chez l'Homme. La baisse de la calcémie et de l'hydroxyprolinurie consécutives à l'administration de mithramycine ont été attribuées à l'action cytotoxique de l'antibiotique au niveau des ostéoclastes (RYAN, SCHWARTZ et NORTHROP, 1969). Chez la Brebis, il ne semble pas en être ainsi puisque l'on n'observe pas d'hypocalcémie significative après thyroïdectomie. Il est d'ailleurs possible que, chez les Pagétique la mithramycine stimule également l'excrétion de calcitonine tout en ayant une action directe au niveau de l'os. D'ailleurs la calcitonine a déjà été utilisée avec succès dans cette maladie (HADDAD, BIRGE et AVIOLI, 1969 ; LANGER et col., 1971).

Les résultats que nous obtenons avec l'adjonction des bloqueurs adrénergiques α ou β sont analogues aux observations effectuées lors de l'étude de l'action de l'adrénaline. Chez le Rat, la phentolamine augmente aussi l'hypocalcémie induite par la streptomycine, mais la différence n'est pas significative (MAC INTYRE I., communication personnelle).

Chez la Brebis, la stimulation des récepteurs adrénergiques paraît donc jouer un rôle très important dans la régulation de l'excrétion de calcitonine par les cellules C. Les doses de framycétine utilisées (20 mg/kg/h durant 2 h, soit 2 g pour une brebis de 50 kg) sont environ quatre fois supérieures à la plus forte dose journalière recommandée (10 mg/kg). Celle-ci ne semble d'ailleurs pas présenter d'inconvénient grave pour la régulation de la calcémie : une dose de 500 mg de framycétine injectée par voie intramusculaire à une brebis de 50 kg n'a produit aucun effet visible sur la calcémie.

H - BLOQUEURS ADRENERGIQUES α ET β

Les observations précédentes semblent indiquer que, même en l'absence de modifications de la calcémie, diverses substances capables de stimuler la production d'AMP cyclique paraissent stimuler aussi celle de calcitonine endogène (tableau 35). Or l'adényl-cyclase qui règle la synthèse d'AMP cyclique, a été comparé à un récepteur adrénergique de type β (ROBINSON, BUTCHER et SUTHERLAND, 1967). L'effet hypocalcémiant

TABEAU 34 : EFFET DU PROPRANOLOL ET DE LA PHENOXYBENZAMINE SUR L'HYPOTALCEMIE ET L'HYPHOSPHATEMIE
(mg/100 ml) INDUITES PAR LE GLUCAGON CHEZ LA VACHE.

Terps (h)	1 *	2	3	4
GLUCAGON	-ΔCa : 0,39 ± 0,21	0,27 ± 0,21	0,14 ± 0,17	0,13 ± 0,24
+ PROPRANOLOL	-ΔP : 0,48 ± 0,39	0,39 ± 0,31	0,39 ± 0,28	0,30 ± 0,20
GLUCAGON	-ΔCa : 1,80 ± 0,24	1,95 ± 0,26	1,10 ± 0,26	0,45 ± 0,23
-ΔP	2,10 ± 0,27	2,27 ± 0,39	2,00 ± 0,35	0,58 ± 0,41
GLUCAGON	-ΔCa : 2,40 ± 0,17	2,63 ± 0,21	1,70 ± 0,39	0,68 ± 0,33
+ PHENOXYBENZAMINE	-ΔP : 2,40 ± 0,37	2,67 ± 0,41	2,20 ± 0,48	0,90 ± 0,51

* Fin de la perfusion

de l'adrénaline et de la framycétine est effectivement bloqué par le propranolol. Il était donc intéressant de voir si l'effet hypocalcémiant du glucagon était également inhibé par le propranolol et quelle pouvait être l'influence de ce bloqueur β adrénergique sur le temps de retour à la calcémie initiale chez des vaches normales ou atteintes d'hypocalcémie vitulaire recevant une perfusion calcique intraveineuse.

Matériel et méthodes :

Pour observer l'effet du propranolol sur l'hypocalcémie induite par le glucagon nous avons utilisé 9 vaches Jersiaises en lactation. 3 ont reçu une injection intraveineuse de propranolol (AVLOCARDYL) ($300 \mu\text{g/kg}$) et de glucagon (ELI LILLY) ($100 \mu\text{g/kg}$) pendant 1 h. 3 autres vaches ont reçu la perfusion de glucagon après une injection intraveineuse de phenoxybenzamine (DIBENZYLINE) ($200 \mu\text{g/kg}$) et les 3 dernières vaches ont reçu la perfusion de glucagon seule.

Pour étudier l'effet du propranolol sur l'excrétion de calcitonine endogène provoquée par une hypercalcémie expérimentale nous avons utilisé 6 vaches Frisonnes ayant mis bas 48 à 72 h plus tôt. 3 animaux ont reçu 3 mg de calcium par kg de poids vif, sous forme d'une solution de 500 ml de glutamate de calcium et les 3 autres ont reçu une perfusion calcique analogue additionnée de propranolol (AVLOCARDYL) ($300 \mu\text{g/kg}$).

Enfin nous avons observé l'effet du propranolol chez 6 vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire. 3 animaux ont reçu une solution de 500 ml de glutamate de calcium classique, leur apportant 7,5 g de calcium et les 3 autres ont reçu une solution analogue additionnée de 150 mg de propranolol ($300 \mu\text{g/kg}$).

Résultats :

a) Effet du propranolol et de la phenoxybenzamine sur l'hypocalcémie induite par le glucagon

Comme le montre le tableau 34 le propranolol inhibe de façon hautement significative ($P < 0,01$) l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie induite par le glucagon. La phenoxybenzamine augmente significativement ($P < 0,05$) l'hypocalcémie induite par le glucagon dès la fin de la perfusion et 1 h plus tard. L'hypophosphatémie est légèrement augmentée mais la différence n'est pas significative.

b) Effet du propranolol sur l'hypercalcémie induite par une injection calcique

- CHEZ LA VACHE EN DEBUT DE LACTATION : Comme le montre la

FIGURE 33: INFLUENCE DU PROPRANOLOL SUR L'HYPERCALCEMIE INDUITE PAR INJECTION DE
GLUTAMATE DE CALCIUM CHEZ LA VACHE POSTPARTURIENTE.

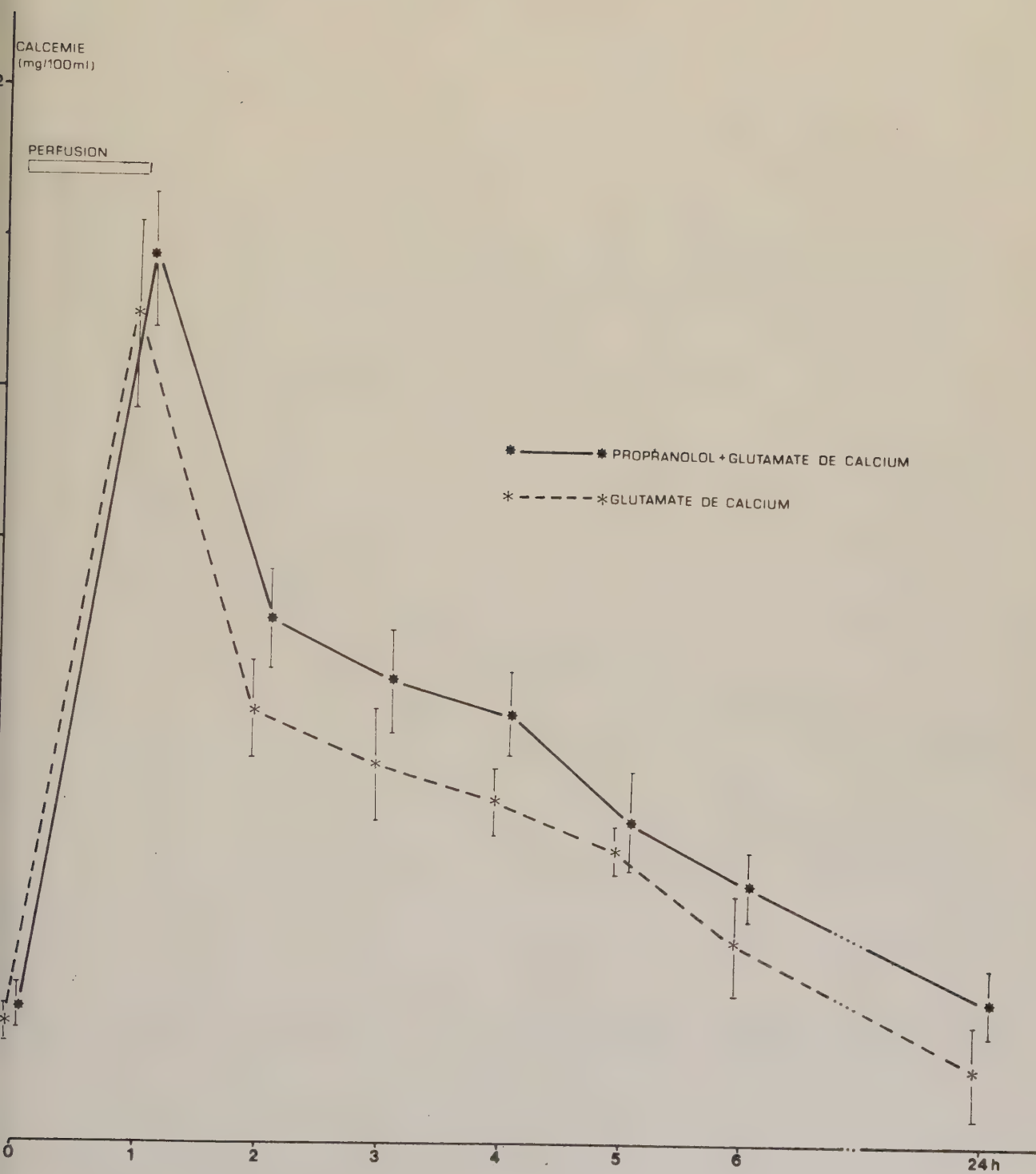


FIGURE 34: EFFET DU PROPRANOLOL SUR LA BAISSSE DE LA CALCEMIE APRES INJECTION DE GLUTAMATE DE CALCIUM CHEZ LA VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE.

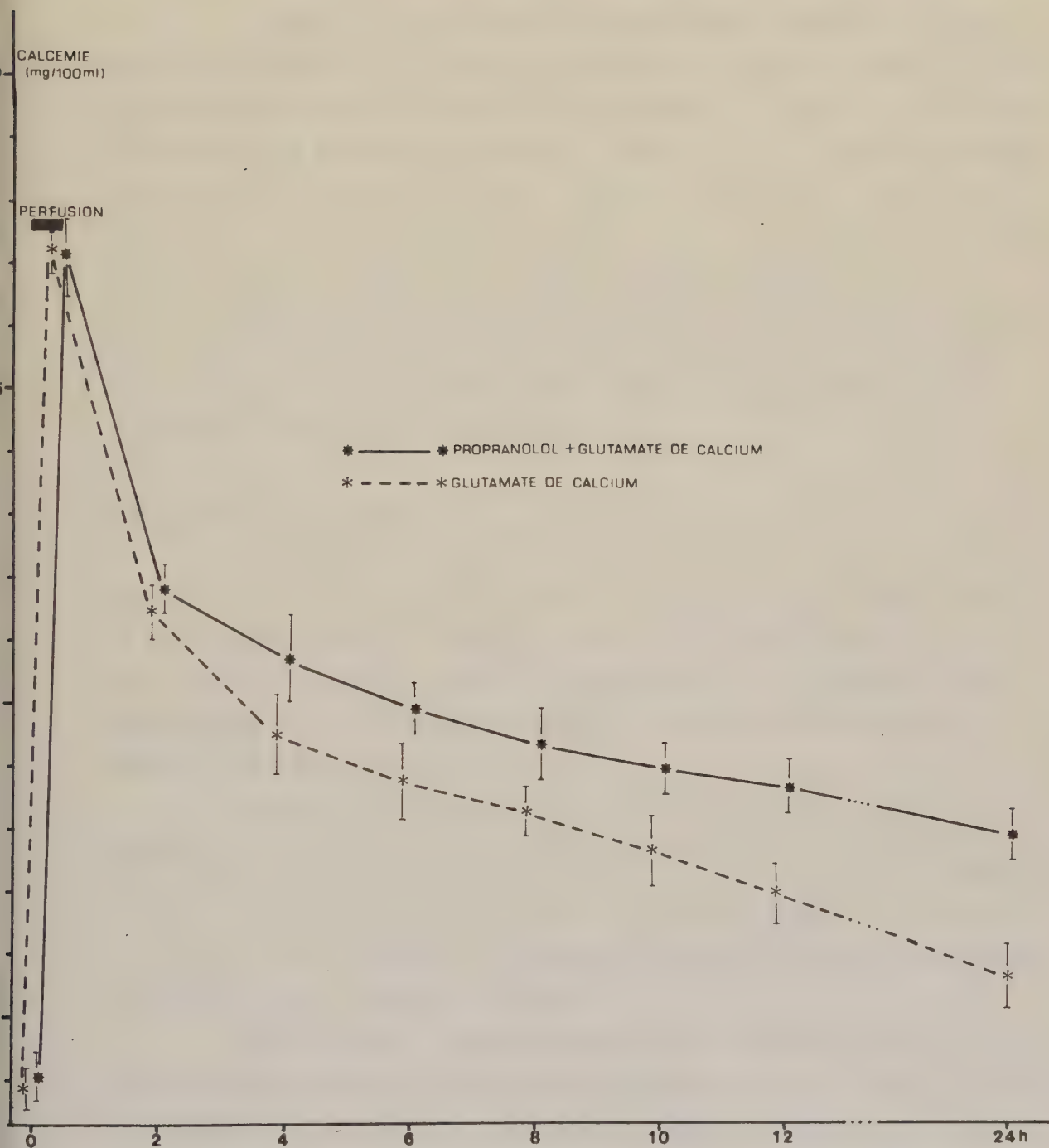


figure 33, le propranolol n'a aucune influence sur l'hypercalcémie induite par l'injection intraveineuse de 3 mg/Ca/kg, ni sur le temps de retour de la calcémie au niveau initial.

- CHEZ LA VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE : Comme le montre la figure 34, le propranolol ralentit significativement la chute de la calcémie qui suit la perfusion calcique. 12 h après la perfusion la calcémie des animaux ayant reçu le propranolol est significativement plus haute ($\text{Ca} = 8,52 \pm 0,40$) que celle des animaux ayant reçu le calcium seul ($\text{Ca} = 7,00 \pm 0,38$) ($P < 0,05$). 24 h après la perfusion la différence entre les 2 groupes est hautement significative ($P < 0,01$) : chez les animaux n'ayant reçu que le calcium la calcémie est retombée à $5,50 \pm 0,51$ mg/100 ml (2 animaux ont récidivé), alors qu'elle est de $7,75 \pm 0,36$ mg/100 ml chez ceux pour lesquels le propranolol a été ajouté au calcium (aucune récidence).

Discussion et conclusions :

Le propranolol bloque l'hypocalcémie induite par le glucagon chez la Vache, et la phenoxybenzamine potentialise cette hypocalcémie. Il semble donc, chez la Vache comme chez la Brebis (tableau 35), qu'une stimulation des récepteurs β adrénergiques, en l'absence d'effet α adrénergique, soit capable de stimuler l'excrétion de calcitonine, même en l'absence d'hypercalcémie.

Lorsque la sécrétion de calcitonine est déclenchée par une hypercalcémie (figure 33), le propranolol ne semble avoir aucune influence sur la régulation de cette sécrétion : en effet chez la vache en début de lactation le propranolol ne modifie de façon significative, ni l'hypercalcémie induite, ni le temps de retour à la calcémie initiale à la suite d'une perfusion calcique.

Chez la vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire, donc en état d'hypersécrétion de calcitonine déclenchée par un facteur inconnu, le propranolol paraît avoir une influence significative. En effet chez les 3 animaux ayant reçu le propranolol la chute de la calcémie est beaucoup moins rapide et moins intense que chez les 3 animaux ayant reçu le glutamate de calcium seul. Ceci semble indiquer que l'excrétion de calcitonine a été ralentie par le propranolol. Le fait qu'aucun des animaux traités n'ait présenté de rechutes pourrait être intéressant pour la mise au point d'une thérapeutique évitant les récides.

L'effet hypocalcémiant de la théophylline n'est pas significativement bloqué par le propranolol. Or la théophylline inhibe les

**TABEAU 35 : RECAPITULATION DE L'INFLUENCE DES BLOQUEURS ADRENERGIQUES
SUR L'HYPOCALCEMIE INDUITE PAR DIVERSES SUBSTANCES CHEZ
LE RUMINANT**

Animal	Substance	Bloqueur	$-\Delta$ Ca maximum (mg/100 ml)	Significa statistic
BREBIS	ADRENALINE		$0,39 \pm 0,19$	
	ADRENALINE	+ PROPRANOLOL	$0,21 \pm 0,10$	N.S.
	ADRENALINE	+ PHENTOLAMINE	$1,80 \pm 0,12$	$P < 0,01$
BREBIS	NORADRENALINE		$0,98 \pm 0,14$	
	NORADRENALINE	+ PHENTOLAMINE	$1,44 \pm 0,16$	$P < 0,05$
BREBIS	FRAMYCETINE		$0,99 \pm 0,17$	
	FRAMYCETINE	+ PROPRANOLOL	$0,28 \pm 0,21$	$P < 0,01$
	FRAMYCETINE	+ PHENOXYBENZAMINE	$1,21 \pm 0,19$	N.S.
	FRAMYCETINE	+ PHENTOLAMINE	$1,45 \pm 0,13$	$P < 0,05$
BREBIS	THEOPHYLLINE		$1,10 \pm 0,22$	
	THEOPHYLLINE	+ PROPRANOLOL	$0,72 \pm 0,17$	N.S.
VACHE	GLUCAGON		$1,95 \pm 0,26$	
	GLUCAGON	+ PROPRANOLOL	$0,48 \pm 0,39$	$P < 0,01$
	GLUCAGON	+ PHENOXYBENZAMINE	$2,67 \pm 0,41$	$P < 0,05$

phosphodiesterases (SUTHERLAND et ROBINSON, 1966). Les effets du propranolol que nous avons observés s'expliquent aisément si l'on admet que l'adényl-cyclase puisse se comporter comme un récepteur β adrénergique (ROBINSON, BUTCHER et SUTHERLAND, 1967).

Ces présomptions pourraient être confirmées ou infirmées seulement par le dosage de l'AMP cyclique au niveau des cellules C et non de la thyroïde entière, puisque l'effet de la TSH sur les cellules folliculaires paraît lui-même lié à l'AMP cyclique (LEVEY, ROTH et PASTAN, 1969).

I - PROLACTINE

L'élévation du taux de prolactine plasmatique étant très intense dans les heures précédant la parturition chez la Vache (SCHAMS et KARG, 1969) on pouvait penser que cet afflux de prolactine pouvait avoir une influence sur l'excrétion de calcitonine. Nous avons donc cherché à voir si la prolactine pouvait modifier la calcémie et la phosphatémie de la vache.

Matériel et méthodes :

3 vaches Jersiaises de 11 ans, tarées, pesant 318 ± 6 kg ont reçu en perfusion intraveineuse, pendant 4 h, 0,5 mg/h de prolactine bovine (NIH - P.B₂ ; 19,9 U/mg), dissoute dans 200 ml de sérum physiologique, maintenu à 4°C pendant la durée de la perfusion par un bain de glace fondante. 3 vaches témoins ont reçu pendant le même temps le même volume de solvant. Tous les animaux ont été mis à jeun 16 h avant le début de la perfusion et pendant la durée de celle-ci.

Résultats :

Comme le montre le tableau 36, la prolactine, à la dose utilisée, n'a aucun effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie des animaux.

Discussion et conclusions :

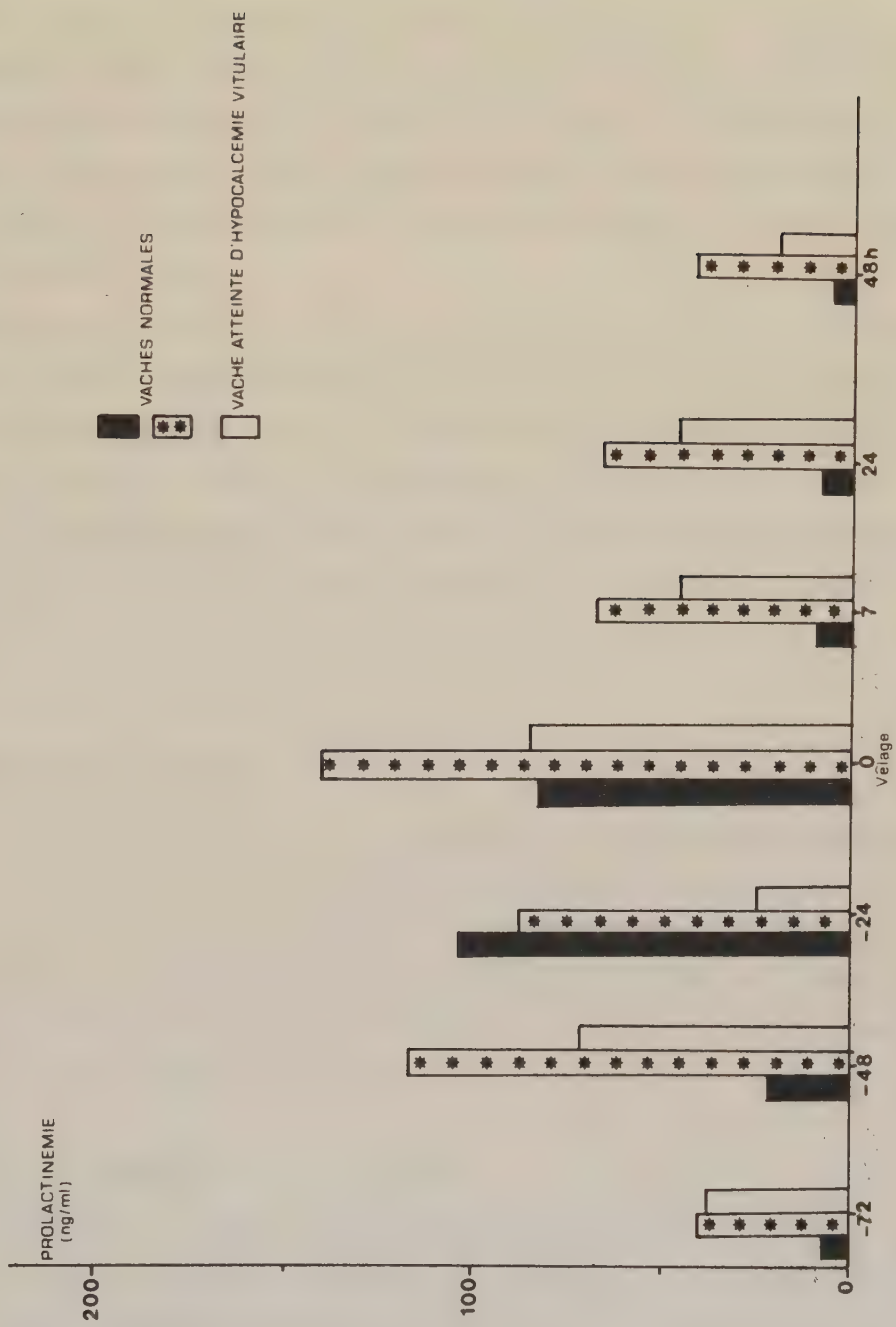
La prolactine, n'ayant aucun effet significatif sur la calcémie et la phosphatémie de la vache laitière, ne paraît pas capable de provoquer une décharge de calcitonine suffisante pour induire une hypocalcémie et une hypophosphatémie significative. 3 observations

TABEAU 36 : EFFET DE LA PROLACTINE SUR LA CALCÉMIE (mg/100 ml) ET LA PHOSPHATÉMIE (mg/100 ml) DE LA VACHE LAITIÈRE

Heures	0	*	1	2	3	4	**	5	6
TRAITEES	Ca	9,70 ± 0,04	9,67 ± 0,17	9,73 ± 0,14	9,75 ± 0,11	9,60 ± 0,10	9,52 ± 0,11	9,45 ± 0,10	
	P	5,20 ± 0,21	5,37 ± 0,28	5,40 ± 0,87	5,10 ± 0,33	5,00 ± 0,39	5,04 ± 0,28	4,80 ± 0,35	
TEMOINS	Ca	9,75 ± 0,10	9,40 ± 0,24	9,30 ± 0,25	9,40 ± 0,25	9,38 ± 0,28	9,39 ± 0,21	9,30 ± 0,29	
	P	5,08 ± 0,27	5,00 ± 0,30	5,04 ± 0,28	5,10 ± 0,31	5,15 ± 0,41	4,89 ± 0,38	4,75 ± 0,41	

* Début de la perfusion
 ** Fin de la perfusion

FIGURE 35 : PROLACTINEMIE DE LA VACHE PARTURIENTE NORMALE OU ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE .



tendent à confirmer cette hypothèse :

1°) La prolactine perfusée dans la thyroïde in situ du Mouton n'augmente pas significativement le taux de calcitonine dans le sang efférent (A.D. CARE, communication personnelle).

2°) Le taux de prolactine plasmatique (mesuré par radioimmunologie, SCHAMS et KARG, 1970) est analogue dans le plasma des 5 vaches parturientes normales ($107 \pm 30 \mu\text{g/ml}$) et dans le plasma prélevé sur 2 vaches au cours d'une crise d'hypocalcémie vitulaire survenant 12 et 14 h après la parturition ($83 \pm 27 \mu\text{g/ml}$) (BARLET, SCHAMS et KARG, données non publiées).

3°) Les variations du taux de prolactine (mesurées par radioimmunologie) chez 2 vaches normales et chez une vache atteinte d'hypocalcémie vitulaire 24 h après la parturition, sont analogues dans les heures précédant et suivant la parturition (figure 35).

La prolactine ne semble donc pas être le facteur déclenchant la décharge de calcitonine survenant à la parturition chez la Vache.

J - INSUFFLATION MAMMAIRE

Comme nous l'avons déjà signalé, l'insufflation mammaire supprime les récédives chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire, récédives très fréquentes avec la thérapeutique à base d'injections calciques. Il était donc intéressant d'observer si l'insufflation mammaire modifiait le taux de calcitonine circulante chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire.

Matériel et techniques :

.....

Nous avons mesuré, par dosage biologique sur des rats la calcitonine chez 3 vaches atteintes spontanément. 2 (A et B) furent traitées par insufflation mammaire pendant 2 h et la 3ème (C) par injection de glutamate de calcium (7,5 g de Ca dans une solution de 500 ml). Sur certains échantillons utilisés pour le dosage de la calcitonine, le dosage radioimmunologique de la prolactine a également été effectué par S. BOHM et D. SCHAMS (Institut de Physiologie, Munich) (SCHAMS et KARG, 1970).

Résultats :

L'insufflation mammaire diminue considérablement la calcitoninémie, contrairement à l'injection de glutamate de calcium (tableau 37). L'animal traité au glutamate a d'ailleurs récidivé 24 h après l'injection.

TABLEAU 37 : EFFET DE L'INSUFFLATION MAMMAIRE ET DE L'INJECTION CALCIQUE SUR LA CALCITONINEMIE (mU/ml) DE LA VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE

(	:	:	:	:	:	:	:						
(	Heures	:	:	:	:	:	:						
(	:	0	:	2	:	4	:	8	:	12	:	24	
(	Animaux	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	
(	-----												
(	A	:	3,9	:	2,6	:	1,4	:	< 1	:	< 1	:	< 1
(	-----												
(	B	:	4,4	:	3,9	:	2,0	:	2,0	:	< 1	:	< 1
(	-----												
(	C	:	3,0	:	4,0	:	3,0	:	3,0	:	3,6	:	4,0
(	-----												
(	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	

Chez les 2 animaux, l'insufflation mammaire diminue pendant 3 h le taux de prolactine de plus de 50 %. Par contre, 3 h après la perfusion calcique, chez le 3ème animal, le taux de prolactine est analogue au taux initial (figure 36).

Discussion et conclusions :

Bien que la baisse du taux de calcitonine plasmatique soit associé à une baisse de la prolactine plasmatique, il ne semble pas y avoir de relation entre les deux phénomènes. En effet chez la vache B, la traite (4 h après la fin de l'insufflation) a fait remonter le taux de prolactine à 122 ng/ml (figure 36) alors que le taux de calcitonine plasmatique chez cet animal est, à ce moment et 6 et 18 h plus tard, inférieure à 1 mU/ml (tableau 37).

Ceci confirme nos observations concernant l'absence d'effet de la prolactine sur l'excrétion de calcitonine.

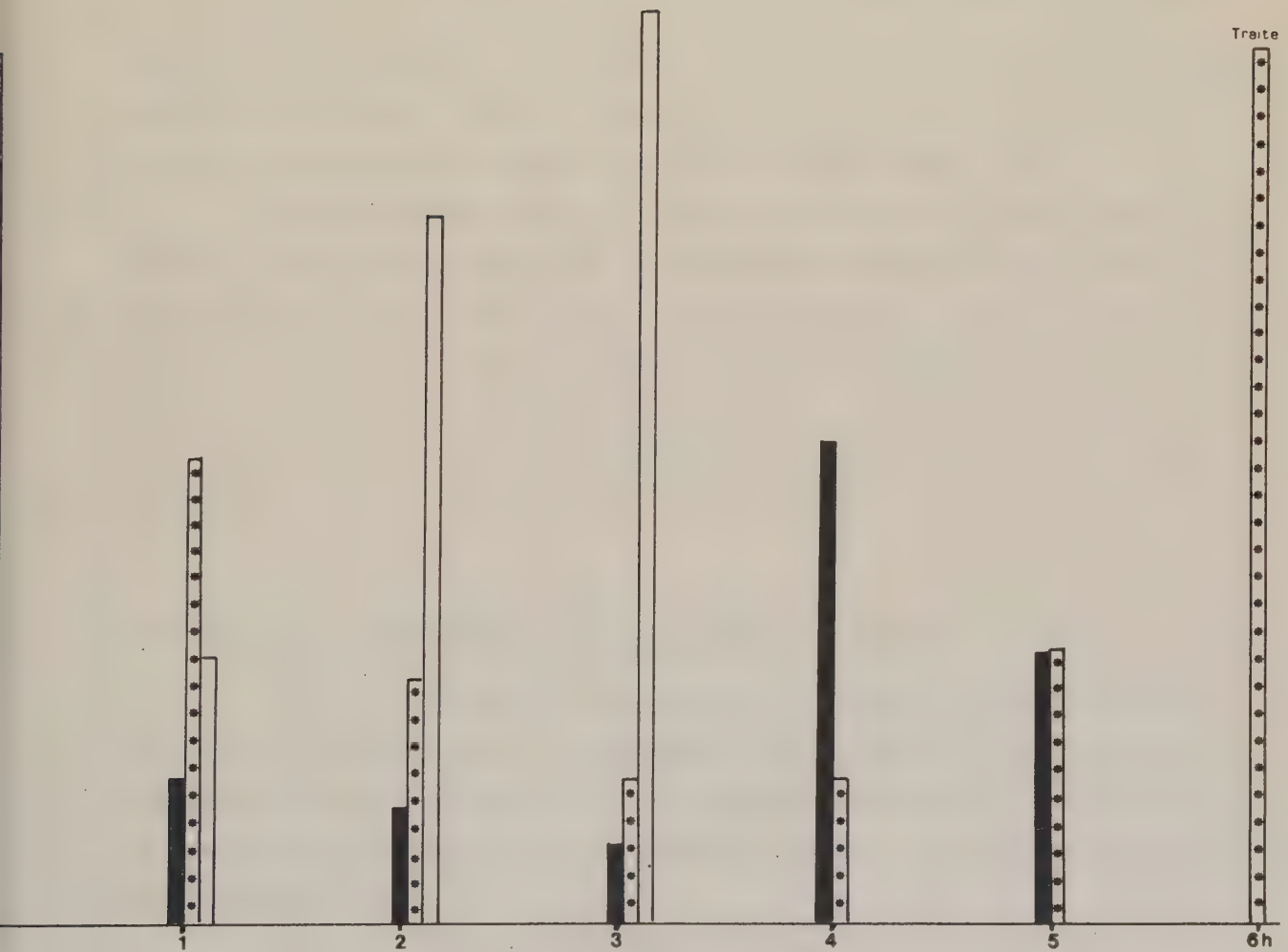
La baisse de la calcitoninémie consécutive à l'insufflation mammaire explique vraisemblablement l'absence de récurrences chez les animaux ainsi traités.

FIGURE 36: INFLUENCE DE L'INJECTION CALCIQUE & DE L'INSUFFLATION MAMMAIRE SUR LA PROLACTINEMIE DE LA VACHE ATTEINTE D'HYPOCALCEMIE VITULAIRE.

PROLACTINEMIE

INSUFFLATION MAMMAIRE
INJECTION CALCIQUE

TRAITEMENT
INJECTION CALCIQUE
INSUFFLATION MAMMAIRE



CHAPITRE V

DISCUSSION GENERALE DES OBSERVATIONS RELATIVES A L'ACTION ET A LA SECRETION DE LA CALCITONINE CHEZ LES RUMINANTS

A - EFFETS DE LA CALCITONINE CHEZ LES RUMINANTS

Comme les autres Mammifères, les Ovins et les Bovins répondent à une perfusion intraveineuse prolongée de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. L'hypocalcémie induite par la calcitonine chez la Vache paraît d'autant plus marquée que le catabolisme osseux de l'animal est intense : la mise à jeun, la lactation, la thyroxine, potentialisent l'hypocalcémie induite par la calcitonine. Au contraire une surcharge calcique administrée par voie orale est suffisante pour inhiber totalement l'effet hypocalcémiant de l'hormone (MAYER, 1970), probablement parce qu'une telle surcharge bloque le catabolisme osseux (MILHAUD et PERAULT-STAUD, 1969).

Contrairement à ce qui a été observé chez les autres Mammifères, l'effet hypocalcémiant de la calcitonine exogène paraît très faible chez le jeune Veau : cela tient probablement à une particularité des paramètres du métabolisme calcique de l'animal (LARVOR et BARLET, 1968). Il ne semble toutefois pas que ce soit une condition suffisante pour affirmer que la calcitonine n'intervient probablement pas dans l'étiologie du syndrome vitulaire (CARE, 1968) !

B - RÔLE DE LA CALCITONINE DANS LE SYNDROME VITULAIRE

Chez la Brebis, où l'on n'observe ni hypocalcémie ni hypophosphatémie à la parturition, on n'observe pas non plus à ce stade physiologique des variations du taux de calcitonine thyroïdienne ou plasmatique d'une amplitude suffisante pour être mises en évidence par dosage biologique sur rats.

Chez la Vache, le vêlage, où l'on observe toujours une hypocalcémie et une hypophosphatémie, est associé à une élévation significative du taux de calcitonine plasmatique.

Nous avons pu induire un syndrome cliniquement (hypothermie, hypoesthésie, coma) et biochimiquement (hypocalcémie et hypophosphatémie) analogue au syndrome vitulaire spontané par perfusion intraveineuse

prolongée de calcitonine à des vaches.

Nous avons mis en évidence une élévation significative du taux de calcitonine plasmatique chez les vaches présentant spontanément le syndrome vitulaire. Cette élévation de la calcitoninémie chez des animaux a été confirmée par dosage radioimmunologique (GARE et col. 1970).

Les preuves histologiques et biochimiques d'une décharge de calcitonine par la thyroïde de ces animaux ont été fournies (YOUNG et CAPEN, 1968).

A l'heure actuelle le syndrome vitulaire peut donc être considéré comme dû à une excrétion accrue de calcitonine survenant au moment du vêlage.

Une preuve supplémentaire pourrait être fournie par la mise en évidence d'un blocage du catabolisme osseux chez les animaux atteints spontanément. Malheureusement les méthodes isotopiques actuelles ne permettent en aucune façon de calculer la valeur du catabolisme osseux chez un ruminant pendant une période de 48 h, immédiatement avant ou après la parturition. De plus une telle expérimentation est très difficilement réalisable en pratique, du fait qu'il est impossible de prévoir exactement la date du vêlage, et surtout de savoir si l'animal sera atteint d'hypocalcémie vitulaire !

On pourrait également envisager d'étudier l'activité ostéoclastique au moment de la parturition, comme cela a été fait pendant la gestation et la lactation (SANSOM, 1969). Cette étude n'apporterait de toute façon que des renseignements qualitatifs et non quantitatifs. De plus, chez les Bovins, l'activité ostéoclastique semble pouvoir varier intensément sans qu'il soit possible de mettre en évidence des variations numériques ou des modifications histologiques nettes (SANSOM B.F., communication personnelle).

C - CAUSES POSSIBLES D'UNE SECRETION ACCRUE DE CALCITONINE CHEZ CERTAINS

VACHES PARTURIENTES

Notre expérimentation met en évidence, le rôle de la calcitonine dans l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie plus ou moins accentuées accompagnant la parturition chez la Vache. Mais les causes de la décharge plus ou moins intense de calcitonine qui les provoque demeurent obscures.

Cette décharge de calcitonine ne semble pas résulter comme on

aurait pu le penser, d'une hypercalcémie transitoire ou d'une élévation plasmatique du taux de calcium ionisé. Elle ne paraît pas non plus être due à une hyperglucagonémie. L'hypermagnésiémie est de trop faible amplitude pour induire une hypocalcémie aussi intense ; de plus l'hypermagnésiémie ne précède pas l'hypocalcémie. Cette hypermagnésiémie pourrait résulter de l'hyperparathyroïdisme accompagnant la parturition (MAYER et col., 1969).

Par contre diverses substances capables de modifier la concentration intracellulaire d'AMP cyclique peuvent stimuler l'excrétion de calcitonine chez le Ruminant. Il est possible que la concentration des cellules C en AMP cyclique joue un rôle très important dans les heures suivant la parturition, où la calcitoninémie paraît régler la calcémie.

Plusieurs hormones semblent pouvoir intervenir dans ce mécanisme :

- Corticoïdes et ACTH : il a été démontré (LITTLEDIKE et col., 1970) que, chez la vache parturiente, le taux d'hydrocortisone était d'autant plus élevé que la calcémie était plus basse. Or l'ACTH stimule la synthèse des stéroïdes. La théorie admise suggère que l'ACTH agit sur l'adényl-cyclase, qui induit la formation d'AMP cyclique nécessaire à l'activation de la phosphorylase. L'enzyme activé facilite la glycogénolyse, et permet l'obtention de glucose-6-phosphate. Ce dernier étant métabolisé par déshydrogénation, il se forme de grandes quantités d'adénine dinucléotide phosphate de nicotamide (NADPH). Ce dernier, utilisé pour la stéroïdogénèse permettra une synthèse accélérée des hormones corticosurrénales (HAYNES, SUTHERLAND et RALL, 1960). Il n'est donc pas exclu qu'une décharge d'ACTH, chez la vache parturiente, puisse influencer l'excrétion de calcitonine par l'intermédiaire de l'adényl-cyclase.

- Adrénaline : comme nous l'avons démontré, l'adrénaline associée à un bloqueur des récepteurs adrénergiques α induit chez la Brebis une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. Il est possible que le stress associé à la parturition libère, chez la Vache, une quantité d'adrénaline suffisante pour provoquer une décharge de calcitonine par les cellules parafolliculaires.

- Ocytocine : chez les Ruminants, comme chez les autres Mammifères, le taux d'ocytocine plasmatique augmente considérablement à la parturition (FOLLEY et KNAGGS, 1965). Depuis longtemps le rôle de l'ocytocine dans le syndrome vitulaire a été envisagé (BELL et MORIS,

1934a). En effet le taux d'ocytocine plasmatique chez les vaches atteintes est supérieur à celui observé chez les vaches parturientes normales (BELL et MORIS, 1934b). Cependant, chez une vache, BELL et MORIS n'ont pas réussi à induire le syndrome vitulaire par injections répétées d'ocytocine. De plus, l'injection d'ocytocine n'a pas d'effet significatif sur la calcémie de la BREBIS (MOODIE, 1968a). Pour pouvoir émettre une hypothèse, il serait indispensable de vérifier par dosage radioimmunologique (CHARD et col., 1970) que le taux d'ocytocine plasmatique des vaches hypocalcémiques est supérieur à celui des vaches normales. En outre, les effets physiologiques de l'ocytocine sont vraisemblablement conditionnés par les taux plasmatiques d'oestrogènes et de progestérone.

- Progestérone : l'administration de progestérone pendant les jours précédant la parturition à des vaches sujettes à l'hypocalcémie vitulaire diminue significativement le nombre de cas d'hypocalcémie chez ces animaux (GEROLA, 1962 ; PAYNE, 1970). Il a été démontré que, chez l'Agnelle, l'administration quotidienne de 10 mg de progestérone pendant 7 jours augmentait significativement la teneur de la thyroïde en calcitonine, probablement en ralentissant l'excrétion de l'hormone (BELONJE et col., 1969). Cependant chez la Brebis adulte, l'administration quotidienne de 20 mg de progestérone pendant 7 jours diminue à la fois l'excrétion et le stockage de la calcitonine par la thyroïde (PHILLIPPO et col., 1971). La chute du taux de progestérone circulante survenant à la parturition pourrait donc intervenir dans la libération de calcitonine par la thyroïde.

- Facteurs réglant la sécrétion lactée

L'insufflation mammaire supprime les récides de l'hypocalcémie vitulaire. L'effet de ce traitement tient probablement au fait qu'il diminue considérablement le taux de calcitonine plasmatique, comme nous l'avons précédemment mis en évidence. Puisque la prolactine ne semble pas intervenir dans cette diminution de la calcitoninémie, il est possible que certains influx nerveux jouent un rôle. En effet, chez l'Oiseau, certaines cellules sécrétrices de calcitonine du corps ultimobranchial paraissent pouvoir être stimulées par l'intermédiaire du nerf vague (HODGES et GOULD, 1969 ; HODGES, 1970). Néanmoins, en microscopie électronique nous n'avons pas pu mettre en évidence de relations entre cellules C et fibres nerveuses chez la Brebis ; il en est d'ailleurs de même chez le Rat où il n'apparaît pas de synapses au niveau des cellules (DORRENHAUS, KOHLER et LUCIANO, 1971)

Jusqu'à présent aucune étude concernant le rôle de la calcitonine dans la lactation n'a été publiée : chez le Rat, les parathyroïdes semblent jouer un rôle important dans la teneur du lait en calcium (MUNSON, 1955 ; TOVERUD et MUNSON, 1956). Le rôle de la calcitonine pourrait être aussi important que celui de la parathormone. En effet, chez la ratte thyroïdectomisée la déminéralisation du squelette pendant la gestation et la lactation est beaucoup plus importante que chez la ratte normale (LEWIS et col., 1971).

On peut donc concevoir qu'une hypersécrétion de calcitonine se manifeste en tant que phénomène physiologique chez la vache parturiente, de façon à éviter une déminéralisation excessive du squelette de l'animal au moment du déclenchement de la sécrétion lactée. Il est d'ailleurs possible que l'hyperparathyroïdisme qui apparaît chez ces animaux stimule la sécrétion de calcitonine. Bien qu'il ait été démontré qu'une perfusion de courte durée de parathormone dans la thyroïde in situ n'augmente pas significativement le taux de calcitonine dans le sang efférent (CARE, BATES et GITELMAN, 1970), ce travail ne démontre pas qu'un taux élevé de parathormone circulante est sans effet sur l'excrétion de calcitonine. En effet, l'ion phosphate perfusé dans la parathyroïde in situ n'a pas d'effet significatif sur l'excrétion de parathormone (SHERWOOD et col., 1969), alors qu'une élévation de la phosphatémie consécutive à l'ingestion de phosphate élève significativement le taux sanguin de parathormone en abaissant la calcémie (REISS et col., 1970).

Ainsi chez certains animaux, peut-être sous l'influence de divers facteurs hormonaux agissant en synergie sur l'élévation du taux d'AMP cyclique intracellulaire (et en particulier au niveau des cellules C), un dérèglement de l'excrétion de calcitonine semble pouvoir survenir et aboutir aux manifestations cliniques et biochimiques de l'hypocalcémie vitulaire.

Une question importante reste cependant posée : par quel mécanisme l'AMP cyclique des cellules C peut-il régler l'excrétion de calcitonine ?

Un des rôles les plus importants de l'AMP cyclique serait de stimuler le transport actif de l'ion Ca^{++} à travers les membranes cellulaires (RASMUSSEN et TENENHOUSE, 1968 ; KUKOVETZ et POCH, 1970). On peut alors supposer qu'en l'absence de variations de la calcémie ou du taux sanguin de calcium ionisé, une élévation de la concentration calcique au sein des cellules C sous l'influence de l'AMP cyclique puisse stimuler l'excrétion de calcitonine.

La théophylline pourrait d'ailleurs agir non seulement en ralentissant la dégradation de l'AMP cyclique par les phosphodiesterases, mais aussi en libérant les ions Ca^{++} de certaines liaisons, comme le fait la caféine dans le muscle de grenouille (BIANCHI, 1961).

Si l'AMP cyclique ne modifie pas la concentration calcique intracellulaire, il est possible qu'une activation de l'adényl-cyclase des cellules C puisse elle-même stimuler la sécrétion de calcitonine : un tel phénomène a déjà été observé dans le cas de l'insuline (MALAISSE, MALAISSE-LAGAE et MAYHEW, 1967), pour laquelle une stimulation des récepteurs β_2 est suffisante pour augmenter significativement l'excrétion (LOUBATIERES et MARIANI, 1970a, 1970b). Selon PEARSE (KALINA et PEARSE, 1970) l'excrétion de la calcitonine pourrait d'ailleurs être influencée par un récepteur adrénergique agissant au niveau des amines biogènes en contact avec les grains de sécrétion. Notre expérimentation ne nous permet pas de choisir entre les deux interprétations. Mais il paraît à peu près certain que l'un de ces deux mécanismes, ou les deux agissant en synergie, puissent jouer un rôle important dans la sécrétion de calcitonine chez le Ruminant.

Chez la Vache, le syndrome vitulaire a d'abord été considéré comme un état d'hypoparathyroïdisme, hypothèse infirmée par le dosage radioimmunologique de la parathormone. Or chez l'Homme, les troubles connus sous le nom de pseudohypoparathyroïdisme semblent résulter effectivement d'une résistance de l'os à l'action de l'hormone parathyroïdienne comme l'avait proposé ALBRIGHT et col. en 1942. En effet le dosage radioimmunologique a permis de mettre en évidence des taux très élevés de parathormone circulante chez ces patients (LEE et col., 1968), mais cette parathormone paraît incapable d'augmenter l'excrétion urinaire d'AMP cyclique chez ceux-ci (AURBACH et col., 1970). Certains auteurs, du fait de la teneur élevée de la thyroïde des patients en calcitonine, avaient d'ailleurs songé au rôle possible de la calcitonine dans le pseudohypoparathyroïdisme (ALIPOULIOS, VOELKEL et MUNSON, 1966 ; TASHJIAN, FRANTZ et LEE, 1966 ; MAZZUOLI, COEN et ANTONOZZI, 1967). La forte diminution de la teneur en calcitonine de la thyroïde des vaches présentant le syndrome vitulaire (CAPEN et YOUNG, 1967) et l'excrétion urinaire calcique et phosphatée normale chez ces animaux (BLOSSER et ALBRIGHT, 1956) suffit à éliminer l'hypothèse d'une résistance de l'os à la parathormone chez les animaux atteints.

A l'heure actuelle, après le cancer médullaire à stroma amyloïde de la thyroïde chez l'Homme (MILHAUD et col., 1968 ; CUNLIFFE

et col., 1968 ; TASHJIAN et MELVIN, 1968), et, probablement, l'ostéopétrose de la souris agouti (MURPHY, 1968) l'hypocalcémie de la vache laitière peut donc être considérée comme un syndrome lié à une hypercalcitoninémie.

La calcitonine paraît d'ailleurs jouer aussi un rôle important dans l'ostéopétrose observée chez certains taureaux reproducteurs. En effet, le cancer des cellules C de la thyroïde se rencontre non seulement chez l'Homme mais aussi chez le Rat (LINDSAY et NICHOLS, 1969). Chez le Taureau, on observe parfois des troubles ostéopétrotiques (KROOK, LUTWAK et Mc ENTEE, 1959), toujours associés à des tumeurs d'origine ultimobronchiale (JUBB et Mc ENTEE, 1959 ; YOUNG, 1971a).

D - CONSEQUENCES PRATIQUES

Une prophylaxie et une thérapeutique efficaces du syndrome vitulaire pourront être mises au point seulement lorsque le déterminisme de la sécrétion de calcitonine chez la vache sera bien établi. Néanmoins on peut dès maintenant songer à utiliser certains résultats.

- INFLUENCE DE LA RATION ALIMENTAIRE SUR L'HYPOCALCEMIE VITULAIRE -

Une réduction de l'absorption calcique intestinale chez la vache parturiente a été envisagée comme cause possible de l'hypocalcémie vitulaire (MOODIE, 1960). Il est certain que les quantités ingérées sont fortement diminuées au moment de la parturition (MOODIE et ROBERTSON, 1961) (CAMPLING, 1966 ; JOURNET et DEMARQUILLY, 1968 ; FORBES, 1970). Par contre l'intérêt d'un rapport Ca/P de la ration inférieur à 2 avant la parturition (BODA et COLE, 1954 ; STOTT, 1965) paraît plus difficile à expliquer, bien que son efficacité ait été prouvée (BODA et COLE, 1954 ; BROCHART, 1964).

- Cependant un rapport Ca/P de la ration égal à 2 augmente l'absorption calcique et phosphatée intestinale chez la vache, comparativement à un rapport Ca/P = 1 (MANSTON, 1967).

- La stimulation parathyroïdienne, que l'on pouvait espérer en augmentant les apports de phosphore et en diminuant ceux de calcium avant la parturition (BODA et COLE, 1954), paraît très superflue, puisque les parathyroïdes sont état d'hyperactivité chez toutes les vaches, et surtout chez celles atteintes d'hypocalcémie (MAYER et col., 1969).

- Des travaux très récents viennent de démontrer qu'une ration carencée en calcium (5 g de Ca/j ; Ca/P = 1/5), distribuée pendant 30

jours, diminuait de 55 % la teneur en calcitonine de la thyroïde des vaches recevant un tel régime, par rapport aux témoins recevant pendant le même temps un régime normal (25 g de Ca/j ; Ca/P = 1/1) (YOUNG, 1971b). Les raisons de la diminution de la teneur de la thyroïde en calcitonine à la suite d'un régime carencé en calcium sont inconnues, mais ces observations suffisent à expliquer l'effet bénéfique d'une diminution des apports calciques dans le mois précédant la parturition.

Un apport convenable de phosphore par la ration, en élevant la phosphatémie, favorisera l'ostéoblastose osseuse (MILHAUD, PERAULT-STAUD et MOUKHTAR, 1969), donc la constitution des réserves minérales. Le tableau 38 indique l'importance de celles-ci : une vache produisant 5000 kg de lait par an excrète par la mamelle environ 4,5 kg de phosphore et 6 kg de calcium.

TABEAU 38 : VALEUR DE QUELQUES PARAMETRES DU METABOLISME
CALCIQUE ET PHOSPHATE DE LA VACHE LAITIERE *

PARAMETRES	Ca	P
INGESTION	70	45
EXCRETION FECALE	53	35
EXCRETION URINAIRE	0,5	0,2
EXCRETION FECALE ENDOGENE	11	15
ABSORPTION INTESTINALE	28	25
EXCRETION LACTEE	18	13

* Ces valeurs (en g/j, pour un animal de 600 kg produisant 15 kg de lait par jour) nous ont été fournies par L. GUEGUEN (station Centrale de Nutrition C.N.R.Z. - 78 - Jouy-en-Josas).

Selon L. GUEGUEN (communication personnelle) les besoins alimentaires de la vache laitière peuvent s'évaluer à 4 g de Ca et 3 g de P par kg de matière sèche de la ration de fourrage, le supplément de phosphore étant automatiquement fourni par les céréales de l'aliment concentré.

Le calcium de la ration paraît mieux assimilé avec une alimentation légèrement acide (VAGG et PAYNE, 1970) : c'est ce qui explique probablement le nombre réduit de cas d'hypocalcémie vitulaire avec une alimentation de ce type (ENDER et DISHINGTON, 1970), qui, en élevant la calcémie, pourrait ralentir le stockage intrathyroïdien de calcitonine.

- ACTION PREVENTIVE DE LA VITAMINE D A L'EGARD DU SYNDROME VITULAIRE -

Les résultats obtenus avec la vitamine D dans la prévention de l'hypocalcémie vitulaire ont été très contradictoires. Nous avons montré que l'administration de vitamine D chez la Vache (10 millions d'unités internationales par jour pendant 14 jours) diminuait considérablement la teneur de la thyroïde de l'animal en calcitonine, sans qu'apparaissent de signes de toxicité ou que l'on puisse déceler des calcifications abhéroentes à l'abattage. Il a été démontré que l'interruption d'un traitement analogue, pendant 48 h, triplait la teneur de la glande en calcitonine (YOUNG et CAPEN, 1970). Ceci explique que la vitamine D peut avoir un rôle préventif efficace à condition d'être administrée jusqu'au jour même du vêlage. De plus, chez le Bovin, la vitamine D augmente l'absorption calcique intestinale (MANSTON et PAYNE, 1964) et la taille du pool calcique échangeable (MANSTON, 1964). Or l'action hypocalcémisante de la calcitonine est inversement proportionnelle à la taille de ce pool (MILHAUD, 1968).

- AMELIORATION DE LA THERAPEUTIQUE DU SYNDROME VITULAIRE -

A l'heure actuelle le vétérinaire praticien dispose de 2 traitements :

- L'injection calcique : c'est elle qui est utilisée le plus fréquemment. Elle amène généralement un rétablissement de l'animal en quelques minutes, sauf dans les cas de Parésie. Mais les rechutes sont fréquentes.

- L'insufflation mammaire : elle réussit souvent là où l'injection calcique n'a pas d'effet bénéfique. De plus elle supprime tout risque

de récurrence. Elle n'est cependant pas sans inconvénient puisqu'elle diminue temporairement la production laitière et qu'elle peut entraîner des mammites.

Il serait donc souhaitable d'améliorer les injections calciques de façon à supprimer les rechutes. Nous avons montré que le propranolol ralentissait significativement la chute de la calcémie consécutive à une injection calcique chez 3 animaux atteints, comparativement à 3 autres animaux ayant reçu le glutamate de calcium seul. Ce ralentissement de la chute de la calcémie par le propranolol résulte probablement d'une inhibition temporaire de l'excrétion de calcitonine endogène (BATES et col., 1970). Actuellement, sur 17 animaux atteints d'hypocalcémie vitulaire et traités par du glutamate de calcium, additionné de propranolol, un seul a récidivé 18 h après l'injection ; parmi ces animaux il faut signaler une vache, qui, au vêlage précédent, avait récidivé 8 fois lors du traitement classique avec le glutamate de calcium ! Si nos futures observations confirment ce résultat, il pourrait être intéressant d'ajouter systématiquement du propranolol aux solutions calciques injectables.

De plus, celles-ci sont très souvent additionnées d'un sel de magnésium, de façon à pouvoir être utilisées aussi bien dans l'hypocalcémie vitulaire que dans la tétanie d'herbage. Si cette association est souhaitable pour le traitement de la tétanie d'herbage, elle est sans aucun intérêt et même néfaste dans l'hypocalcémie vitulaire. En effet, on observe une hypermagnésémie plus ou moins accentuée dans l'hypocalcémie vitulaire. Or, cette hypermagnésémie, aggravée par l'injection d'un composé magnésien, risque de stimuler encore l'excrétion de calcitonine, donc de favoriser la récurrence du syndrome.

En conclusion :

Nous avons mis en évidence le rôle de la calcitonine dans le syndrome vitulaire de la vache laitière. Celui-ci, caractérisé par une hypocalcémie et une hypophosphatémie très intenses, apparaît comme une exacerbation des variations physiologiques survenant normalement chez toutes les vaches parturientes sous l'influence d'une élévation du taux de calcitonine plasmatique. Chez certaines vaches, un dérèglement de la sécrétion de l'hormone induit l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie aboutissant aux manifestations cliniques du syndrome.

- R E S U M E -

=====

- Nous avons observé les effets de la calcitonine, hormone thyroïdienne, d'origine ultimobranchiale, polypeptidique, hypocalcémiante et hypophosphatémiante, sur la calcémie et la phosphatémie de la Vache et de la Brebis.

- Quelle que soit la race bovine considérée, la parturition est toujours associée à une hypocalcémie et à une hypophosphatémie, dont l'intensité va croissant jusqu'au troisième vêlage. Cette hypocalcémie et cette hypophosphatémie, très intenses chez certains animaux, aboutissant alors aux manifestations cliniques du syndrome vitulaire.

- Ce syndrome peut également apparaître chez la Chèvre, où la parturition est également associée à une hypocalcémie et à une hypophosphatémie. Chez la Brebis, on n'observe pas de variations significatives de la calcémie et de la phosphatémie au moment de l'agnelage.

- Le Ruminant répond à une perfusion intraveineuse prolongée de calcitonine par une hypocalcémie et une hypophosphatémie significatives. L'intensité de cette hypocalcémie est potentialisée par les facteurs stimulant le catabolisme osseux, au niveau duquel s'exerce l'action hypocalcémiante de l'hormone.

- Une baisse de la calcémie et de la phosphatémie de l'ordre de 50 %, induite par la calcitonine, n'entraîne l'apparition d'aucun symptôme clinique chez la Brebis. Par contre nous pouvons induire expérimentalement un syndrome cliniquement et biochimiquement analogue au syndrome vitulaire spontané par administration intraveineuse prolongée de calcitonine à la Vache et à la Génisse.

- Nous avons mis en évidence une élévation significative du taux plasmatique de calcitonine chez la vache parturiente, élévation qui est significativement plus accentuée chez les vaches atteintes d'hypocalcémie vitulaire. L'hypocalcémie vitulaire peut donc être considérée comme due à une décharge de calcitonine survenant au moment de la parturition chez la Vache.

- Cette décharge de calcitonine ne résulte pas d'une élévation de la calcémie ou du taux sanguin de calcium ionisé, d'une hyperglucagonémie ou d'une augmentation du taux de prolactine circulante. Divers facteurs, connus pour augmenter la concentration d'AMP cyclique intracellulaire, sont capables de stimuler l'excrétion de calcitonine chez

le Ruminant, même en l'absence d'hypercalcémie. La décharge de calcitonine survenant à la parturition pourrait être induite par un mécanisme analogue.

- L'insufflation mammaire, qui supprime les récives chez les animaux atteints d'hypocalcémie vitulaire, diminue considérablement le taux de calcitonine plasmatique chez la vache hypocalcémique.

- S U M M A R Y -

=====

THE ROLE OF CALCITONIN IN THE REGULATION OF CALCIUM AND
INORGANIC PHOSPHORUS METABOLISM OF RUMINANTS, AND IN PAR-
TURIENT PARESIS OF DAIRY COWS.

A detailed study has been made of the changes in plasma calcium, inorganic phosphorus, magnesium and glucose, in parturient cows, goats and ewes.

In each dairy or beef cow observed, plasma calcium and inorganic phosphorus levels fell at the time of calving. In every breed the fall was greater after the second calving than in younger cows, and it was significantly more accentuated in dairy than in beef cows (table 2). A rise in plasma magnesium and glucose was associated with the fall in plasma calcium and inorganic phosphorus (table 2). A significant negative correlation between plasma magnesium and calcium appeared in the hour just after calving in 22 Fresian and Jersey cows. At the same time there was a significant positive correlation between plasma calcium and inorganic phosphorus.

In paretic cows the fall in plasma calcium and inorganic phosphorus and the rise in plasma magnesium and glucose was greater than in normal cows (table 3). Thus parturient paresis appears as an exacerbation of slight variations occurring normally in every calving cow. For an unknown reason, plasma calcium from newborn calves from 11 paretic cows was significantly lower than plasma calcium from 23 control newborn calves (table 4).

A syndrome clinically and biochemically similar to parturient paresis was observed in two goats some days after parturition (table 6). In the goat, as in the cow, parturition is always characterized by hypocalcemia and hypophosphatemia (table 5).

But in ewes, from different sheep breeds, we were unable to observe any significant change in plasma calcium or inorganic phosphorus at the time of lambing (table 7).

The mammary drain of calcium at parturition does not seem to be the main cause for the fall in plasma calcium occurring at parturition, since such a fall appears in some cows some days before the

beginning of lactation (fig. 4). This observation led us to inquire into the possible role of calcitonin in the disturbance of calcium homeostasis in cows suffering from parturient paresis.

In the lactating dairy cow, as in the dairy heifer, a prolonged intravenous infusion of calcitonin induced a fall of about 50% in plasma calcium and inorganic phosphorus (Table 16 ; Fig. 16 and 17). Clinical symptoms similar to those of spontaneous parturient paresis appeared in animals treated thus, which could be quickly cured by intravenous injection of calcium glutamate. In the lactating ewe prolonged infusions of purified ovine or porcine calcitonin induced similar changes in plasma calcium and inorganic phosphorus (fig. 20), but clinical symptoms were never observed.

Calcitonin levels in plasma and in thyroid gland were measured (by a four points bioassay in young male rats) in calves, steers (table 18), and in cows, during pregnancy and lactation, at calving time and during parturient paresis. Pregnancy or lactation decreased significantly the thyroïdal content of calcitonin (table 19). In normal cows plasma levels of calcitonin were immeasurable by bioassay in rats some days after calving. But at calving time a hypocalcemic and hypophosphatemic factor similar to calcitonin, was present in the plasma of cows (Fig. 21). This calcitonin-like factor was found at higher levels in the plasma of paretic cows (table 20). This last point has now been confirmed by radioimmunoassay in others laboratories (CARE, BATES, PHILLIPPO, LEQUIN, HACKENG, BARLET et LARVOE, 1970).

A syndrome clinically and biochemically similar to parturient paresis can be induced in dairy cows by prolonged infusions of calcitonin. Higher levels of calcitonin are found in the plasma of paretic cows. Calcitonin seems able to play an important role in parturient paresis.

Thus, in parturient paresis, calcitonin, secretion seems to escape from control by plasma calcium concentration, and we have tried to explain the causes of this release.

It does not seem to be due to a rise in ionized plasma calcium, since variations of ionized plasma calcium are similar to those of total plasma calcium and there is no hypercalcemia before calving or parturient paresis (fig.3). Glucagon can induce a release of calcitonin from the bovine thyroid (fig. 23), but glucagon probably does not play a major role in parturient paresis since there is no hyperglucagonemia before or during milk-fever crisis (table 25 ; Fig. 24).

It is well known that udder insufflation inhibits relapses in paretic cows. We have shown that plasma calcitonin levels are lower after udder insufflation (table 37). Thus we had thought that prolactin might play some role in the release of calcitonin. In fact plasma prolactin levels (measured by radioimmunoassay) are similar in normal calving and in paretic cows (fig. 35).

In the cow, as in the ewe, the stimulation of β adrenergic receptors of the C cells seems able to induce the release of calcitonin. For example, catecholamines given intravenously, induce a significant fall in plasma calcium and inorganic phosphorus in the normal animal. (Fig. 26 and 27). Neither hypocalcemia nor hypophosphatemia appears in similar thyroidectomized animals supplemented with T_4 , or in normal animals treated with a β adrenergic blocker and the same infusion, but the hypocalcemic and hypophosphatemic effect of catecholamines is greatly enhanced by α adrenergic blockers (fig. 26 and 27).

Nevertheless the reasons for the release of calcitonin in paretic cows remain obscure. It seems possible that several factors might act synergistically to induce this release and to protect the skeleton of the cow against an excessive osteolysis, caused by the rise in circulating parathormone occurring at calving time.

- BIBLIOGRAPHIE -

=====

- ADAMS P. et JOWSEY J., 1967. Bone and mineral metabolism in hyperthyroidism : an experimental study. Endocrinol., 81, 735-740 .
- AER J., 1968. Effect of thyrocalcitonin on urinary hydroxyproline and calcium in rats. Endocrinol., 83, 379-380.
- AGKUN S. et RUDMAN D., 1969. Relationships between mobilization of free fatty acids from adipose tissue, and the concentrations of calcium in the extracellular fluid and in the tissue. Endocrinol., 84, 926-930.
- AGUILAR -PARADA E., EISENTRAUT A.M. et UNGER R.H., 1969. Effects of starvation on plasma pancreatic glucagon in normal man. Diabetes, 18, 717-723.
- ALBRIGHT F., BURNETT C.H., SMITH P.H. et PARSON W., 1942. Pseudo-hypoparathyroidism : example of "Seabright-Bantam syndrome" report of 3 cases. Endocrinol., 30, 922-932.
- ALDRED J.P., KLESZYNSKI R.R. et BASTIAN J.W., 1970. Effects of acute administration of porcine and salmon calcitonin on urine electrolyte excretion in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 134, 1175-1180.
- ALDRED J.P., STUBBS R.K., HERMANN W.R., ZEEDYK R.A. et BASTIAN J.W., 1970. Effect of porcine calcitonin on some urine electrolyte in the rat. Acta endocrinol., 65, 735-750.
- ALIAPOULIOS M.A., GOLDBERGER P. et MUNSON P.L., 1969. Thyrocalcitonin inhibition of bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture. Science, 151, 330-331.
- ALIAPOULIOS M.A. et MUNSON P.L., 1965. Thyrocalcitonin. Surg. Forum, 16, 55-57.
- ALIAPOULIOS M.A. et ROSE E.H., 1970. Specific localization of calcitonin activity in human thyroid glands. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann London, 295-300.
- ALIAPOULIOS M.A., SAVERY A. et MUNSON P.L., 1965. New experiments with thyrocalcitonin. Fed. Proc., 24, 322 (Abstract).
- ALIAPOULIOS M.A., VOELKEL E.F. et MUNSON P.L., 1966. Assay of human thyroid glands for thyrocalcitonin activity. J. Clin. Endocrinol. Metab., 26, 897-901.
- ANSARI P.M., 1967. Strukturelle und histochemische Veränderungen der parafollikulären Zellen in der Rattenschilddrüse unter dem Einfluss von hyper und hypocalcämie. Beitr. path. Anat., 135, 411-426.
- AOI T., 1966. Electron microscopic studies of the follicle cells and parafollicular cells in the thyroid gland of primates. Okajimas Fol. anat. jap., 42, 63-89.

- AQUARON R., 1968. Séparation et dosage des acides aminés iodés de la thyroglobuline après hydrolyse enzymatique. Thèse Doctorat Faculté de Médecine, Marseille.
- ARDAILLOU R., FILLASTRE J.P., MILHAUD G., ROUSSELET F., DELAUNAY F. et RICHET G., 1969. Renal excretion of phosphate, calcium and sodium during and after a prolonged thyrocalcitonin infusion in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 13, 56-60.
- ARDAILLOU R., MILHAUD G., ROUSSELET F., VUAGNAT P. et RICHET G., 1967. Effet de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du sodium et du chlore chez l'homme normal. C.R. Acad. Sci. D, 264, 3037-3040.
- ARDAILLOU R., SIZONENKO P., MEYRIER A., VALLEE G. et BEAUGAS C., 1970. Metabolic clearance rate of radioiodinated human calcitonin in man. J. Clin. Invest., 49, 2345-2352.
- ARDAILLOU R., VUAGNAT P., MILHAUD G. et RICHET G., 1967. Effets de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du phosphore, du calcium et des ions H^+ chez l'homme normal. J. Physiol. (Paris), 59, 204.
- ARNAUD C.D., LITTLEDIKE T., TSAO H.S., 1970. Calcium homeostasis and the simultaneous measurement of calcitonin and parathyroid hormone in the pig. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 95-101.
- ASBURY A.C. 1962. Hypocalcemia in ewes. J.A.V.M.A., 141, 703-705.
- ASCHAFFENBURG R., 1949. The nutritive value of colostrum for the calf. 3. - Changes in the serum protein of the newborn calf following the ingestion of small quantities of the non fatty fraction. Brit. J. Nutr., 3, 200-204.
- ASLING C.W., DURBIN P.W., PARROTT M.W., JONHSTON M.E. et HAMILTON J.G., 1957. Evidence for function of aberrant thyroid tissue in thymus of rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94, 200-201.
- ASSAN R., ROSSELIN G., TCHOBROUTSKY G. et FREYCHET P., 1969. Dosage radioimmunologique du glucagon ; application à l'étude d'extraits digestifs humains et animaux. Path. Biol., 17, 45-51.
- AUGER M.L., 1926. Recherches sur la pathogénie de la fièvre vitulaire. Rev. Gén. Méd. Vét., 25, 353-384.
- AUMÜLLER G., 1968. Histologische und histopochemische Untersuchungen am ultimobranchialen Körper beim neugeborenen Meerschweinchen. Acta. histochem., 31, 202-208.
- AURBACH G.D., MARCUS R., WINICKOFF R.N., EPSTEIN E.H. et NIGRA T.P., 1970. Urinary excretion of $3' \ 5'$ -AMP in syndromes considered refractory to parathyroid hormone. Metabolism, 19, 799-808.
- AVIOLI L.V., BIRGE S.J., SCOTT B. et SHIEBER W., 1969. Role of the thyroid gland during glucagon induced hypocalcemia in the dog. Amer. J. Physiol., 216, 939-945.

- AZZALI G., 1964. Ultrastructure des cellules parafolliculaires de la thyroïde chez quelques mammifères. Ann. Endocrinol., 25, 8-13.
- BABER E.C., 1876. Contribution to the minute anatomy of the thyroid gland of the dog. Trans. Roy. Soc. London, 166, 557-568.
- BACH S.J. et MESSERVY A., 1969. Observations on the diffusible calcium fraction in the serum of the cow during oestrus and during parturition. Vet. Rec., 84, 210-213.
- BAGHDIA NTZ A., FOSTER G.V., EDWARDS A., KUMAR M.A., SLACK E., SOLIMAN H.A. et MAC INTYRE I., 1964. Extraction and purification of calcitonin. Nature, 203, 1027-1028.
- BAGLIONI T. et DELMONTE G., 1969. Fattore estraibile dal siero bovino ad azione sul contenuto in Ca, Mg, P, Na, K et acido citrico nel siero del ratto. Archiv. Vet. Ital., 20, 445-458.
- BANGHAM D.R., COPP D.H., PARSONS J.A. et ROBINSON C.J., 1970. Plasma calcitonin in man. Lancet, 2, 312-313.
- BARG W.F., ENGLERT M.E., DAVIES M.C., COLUCCI D.F., SNEDEKER E.H., DZIOBKOWSKI C. et BELL P.H., 1970. Degradation and structure of porcine calcitonin -1. - Biochem., 9, 1671-1676.
- BARLET J.P., 1967. Effets de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie de la vache laitière. C.R. Acad. Sci., D, 265, 1075-1078.
- BARLET J.P., 1968a. Effets de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie du veau. C.R. Acad. Sci., D, 266, 395-398.
- BARLET J.P., 1968b. Mise en évidence d'une inactivation de la thyrocalcitonine porcine et bovine chez des vaches ayant déjà reçu des administrations de thyrocalcitonine porcine. C.R. Acad. Sci., D, 267, 348-351.
- BARLET J.P., 1968c. Induction expérimentale d'un syndrome analogue à la fièvre vitulaire par administration de thyrocalcitonine à des vaches en cours de lactation. C.R. Acad. Sci., D, 267, 2010-2013.
- BARLET J.P., 1969a. Mise en évidence d'un facteur hypocalcémiant et hypophosphatémiant dans le plasma des vaches laitières ; variations du taux de ce facteur au moment du vêlage et dans les cas de syndrome vitulaire. C.R. Acad. Sci., D, 268, 1864-1867.
- BARLET J.P., 1969b. Variations de la calcémie et de la phosphatémie chez la vache laitière au moment du vêlage : rôle probable de la calcitonine dans l'étiologie du syndrome vitulaire. Rech. Vétér., 2, 93-100.
- BARLET J.P., 1969c. Etude de l'influence du glucagon et de l'arginine sur la calcémie du lapin et de la brebis. C.R. Acad. Sci., D, 269, 621-624.

- BARLET J.P., 1970a. Effet du glucagon ou de l'arginine sur la calcémie et la phosphatémie de la vache laitière. C.R. Acad. Sci., D, 270, 1161-1164.
- BARLET J.P., 1970b. L'hypocalcémie vitulaire de la vache laitière : influence sur son comportement ; rôle de la calcitonine dans l'étiologie du syndrome. Problèmes actuels d'Endocrinologie et de Nutrition, 14, 158-169.
- BARLET J.P., 1971. Role of the thyroid gland in magnesium-induced hypocalcemia in the Bovine. Horm. Metab. Res., 3, 63-64.
- BARLET J.P., COPP D.H. et ROBINSON C.J., 1971. Effects of porcine, salmon and human calcitonin in cows and sheep. Horm. Metab. Res., (sous presse).
- BARLET J.P., MICHEL M.C., LARVOR P. et THERIEZ M., 1971. Calcémie, phosphatémie, magnésiémie et glycémie comparées de la mère et du nouveau-né chez les Ruminants domestiques (Vache, Chèvre, Brebis). Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., (sous presse).
- BATES R.F.L., BRUCE J. et CARE A.D., 1969. Measurement of calcitonin secretion rate in the goose. J. Endocr., 45, XIV-XV.
- BATES R.F.L., BRUCE J.B. et CARE A.D., 1970. The effects of catecholamines on calcitonin secretion in the pig. J. Endocr., 46, XI-XII.
- BATES R.F.L., PHILLIPPO M. et LAWRENCE C.B., 1970. The effect of propranolol on calcitonin secretion. J. Endocr., 48, VIII-IX.
- BAYLINK D., MOREY E. et RICH C., 1969. Effect of calcitonin on the rates of bone formation and resorption in the rat. Endocrinol., 84, 261-269.
- BELL G.H. et MORRIS S., 1934a. The oxytocic property of the blood of the cow. J. Physiol., 81, 63-69.
- BELL G.H. et MORRIS S., 1934b. The oxytocic property of the blood of the cow and its relation to milk fever. Brit. J. Exp. Pathol., 25, 143-147.
- BELL N.H., 1970. Effects of glucagon, dibutyryl cyclic 3'-5' adenosine monophosphate and theophylline on calcitonin secretion in vitro. J. Clin. Invest., 49, 1368-1373.
- BELL N.H., BARRETT R.J. et PATTERSON R., 1966. Effects of porcine thyrocalcitonin on serum calcium, phosphorus and magnesium in the monkey and in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 123, 114-118.
- BELL N.H. et STERN P.H., 1970. Effects of changes in serum calcium on hypocalcemic response to thyrocalcitonin in the rat. Amer. J. Physiol., 218, 64-68.
- BELL P.H., COLUCCI D.F., DZIOBKOWSKI C., SNEDEKER E.H., BARG W.F. et PAUL R., 1970. Isolation, purification and properties of porcine calcitonins. Biochem., 9, 1665-1670.

- BELONJE P.C., VAN NIEKERK C.H., VAN AARDE I.M.R. et SMIT G.L., 1969. The influence of progesterone and stilboestrol on the thyrocalcitonin content of sheep thyroids. J.S. Afr. Vet. Med. Ass., 40, 179-182.
- BERNSTEIN D.S., ALIAPOULIOS M.A., HATTNER A., WACHMAN A. et ROSE B., 1969. Serum calcium ion activity : effects of thyrocalcitonin and parathyroid extract in the rat. Endocrinol., 85, 589-592.
- BERNSTEIN D.S., KLEEMAN C.R. et PINE S., 1965. The effect of thyroparathyroid perfusion with hyper and hypocalcemic blood on calcium, phosphorus and magnesium metabolism. Clin. Res., 13, 105.
- BERTHELON M., 1958. Les névroses vitulaires de la vache. Rev. Méd. Vét., 109, 641-664.
- BIANCHI P., 1961. The effect of caffeine on radiocalcium movement in frog sartorius. J. Gen. Physiol., 44, 845-858.
- BIRGE S.J. et AVIOLI L.V., 1969. Glucagon-induced hypocalcemia in man. J. Clin. Endocr. Metab., 29, 213-218.
- BLATT W.F., ROBINSON S.M. et BIXLER H.J., 1968. Membrane ultrafiltration : the diafiltration technique and its application to microsoluble exchange and binding phenomena. Anal. Biochem., 26, 151-173.
- BLOCK R.J. et MANDL R.M., 1962. Automatic analysis of iode amino acids and of iodide in digests of iodinated proteins. Ann. N.Y. Acad. Sci., 102, 87-95.
- BLOSSER T.H., ALBRIGHT J.L., 1956. Urinary calcium excretion and blood calcium levels in the bovine near parturition. Ann. N.Y. Acad. Sci., 64, 386-397.
- BLOSSER T.H. et SMITH V.R., 1953. Parturient paresis. VI. Some changes in the urinary excretion of certain constituents at parturition and their possible association with changes in the blood picture. J. Dairy Sci., 36, 329-337.
- BODA J.M. et COLE H.H., 1954. The influence of dietary calcium and phosphorus on the incidence of milk-fever in dairy cattle. J. Dairy Sci., 37, 360-372.
- BODA J.M. et COLE H.H., 1956. Calcium metabolism with special reference to parturient paresis (milk-fever) in dairy cattle : a review. J. Dairy Sci., 39, 1027-1054.
- BOELKINS J.N. et KENNY A.D., 1970. Plasma calcitonin levels in birds. Fed. Proc., 29, 253 (Abstract).
- BORLE A.B., 1969. Effects of thyrocalcitonin on calcium transport in kidney cells. Endocrinol., 85, 194-196.
- BOWEN J.M., BLACKMON D.M. et HEAVNER J.E., 1970. Neuromuscular transmission and hypocalcemic paresis in cow. Am. J. Vet. Res., 31, 831-839.
- BOWSER E.N., HENDERSON W.J. et WILLIAMS G.A., 1968. Glucagon-induced hypocalcemia in the rat. J. Lab. Clin. Med., 72, 587.
- BRAITHWAITE G.D., GLASCOCK R.F. et RIAZZUDIN S., 1969. Calcium metabolism in lactating ewes. Br. J. Nutr., 23, 827-834.

- BRAITHWAITE G.D., GLASCOCK R.F. et RIAZZUDIN S., 1970. Calcium metabolism in pregnant ewes. Br. J. Nutr., 24, 661-670.
- BRAUNSTEIN H. et STEPHENS C.L., 1968. Parafollicular cells of human thyroid. Arch. Pathol., 86, 659-666.
- BREWER H.B., KEUTMANN H.T., POTTS J.T. et REISFELD R.A., 1968. Isolation and chemical properties of porcine thyrocalcitonin. J. Biol. Chem., 243, 5739-5747.
- BREWER H.B. et RONAN R., 1969. Amino acid sequence of bovine thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 63, 940-947.
- BREWER H.B., SCHLUETER R.J. et ALDRED J.P., 1970. Isolation and characterization of bovine thyrocalcitonin. J. Biol. Chem., 245, 4232-4240.
- BRION A., 1967. Résultats d'une enquête sur la fièvre vitulaire. Bull. Soc. Vét. Pratique, 311-318.
- BROCHART M., 1964. La prévention de l'hypocalcémie vitulaire. Ann. Zootech., 13, 63-69.
- BRYANT G.D., GREENWOOD F.C. et LINZELL J.L., 1968. Plasma prolactin levels in the goat : physiological and experimental modifications. J. Endocr., 40, IV-V.
- BUGNON C., MAURAT J.P., LENYS D., MOREAU N. et ROUSSELET F., 1967. Etude de l'origine cytologique de la thyrocalcitonine chez des rats en hypervitaminose D. C.R. Soc. Biol., 161, 2363-2366.
- BUSSOLATI G. et PEARSE A.G.E., 1967. Immunofluorescent localization of calcitonin in the C cells of pig and dog thyroid. J. Endocr., 37, 205-209.
- CALAMY H. et BARLET J.P., 1970. Etude des effets de la calcitonine exogène ou endogène sur la calcémie de la Poule. C.R. Acad. Sci., D, 271, 2153-2156.
- CAMPLING R.C., 1966. A preliminary study of the effect of pregnancy and of lactation on the voluntary intake of food by cows. Br. J. Nutr., 20, 25-39.
- CANIGGIA A., GENNARI C., BENCINI M., PALAZZUOLI V., BOKRELO G. et LENZI F., 1968. Action of thyrocalcitonin on intestinal absorption of radiophosphate in man. J. Nucl. Biol. Med., 12, 83-85.
- CAPEN C.C. et YOUNG D.M., 1967a. The ultrastructure of the parathyroid glands and thyroid parafollicular cells of cows with parturient paresis and hypocalcemia. Lab. Invest., 17, 717-737.
- CAPEN C.C. et YOUNG D.M., 1967b. Thyrocalcitonin : evidence for release in a spontaneous hypocalcemic disorder. Science, 157, 205-206.
- CAPEN C.C. et YOUNG D.M., 1969. Fine structural alterations in thyroid parafollicular cells of cows in response to experimental hypercalcemia induced by vitamin D. Amer. J. Pathol., 57, 365-382.

- CAPPAL P. et MARONGIU A., 1968. La tirocalcitonina nel cavallo e nell' asino. Atti Soc. Ital. Sci. Vet., 22, 238-241.
- CARE A.D., 1965. Secretion of thyrocalcitonin. Nature, 205, 1289-1291.
- CARE A.D., 1966. Further evidence for thyrocalcitonin secretion in the pig. J. Endocr., 34, XI-XII.
- CARE A.D., 1968. Significance of the thyroid hormones in calcium homeostasis. Fed. Proc., 27, 153-155.
- CARE A.D., 1969. Endocrine control of calcium and magnesium metabolism in ruminants. Proc. Nutr. Soc., 28, 183-189.
- CARE A.D., 1970. The effects of pancreozymin and secretin on calcitonin release. Fed. Proc., 29, 253 (Abstract).
- CARE A.D., ANDERSON L.L., COOPER C.W., OXENKEDER S.L. et PHILLIPPO M. 1969. Effect of hypophysectomy on secretion of porcine thyrocalcitonin in vivo. J. Endocr., 43, 679-680.
- CARE A.D., BATES R.F.L. et GITELMAN H.J., 1969. The role of glucagon in the release of thyrocalcitonin. J. Endocr., 43, LV-LVI.
- CARE A.D., BATES R.F.L. et GITELMAN H.J., 1970. A possible role for the adenylyl-cyclase system in calcitonin release. J. Endocr., 48, 1-15.
- CARE A.D., BATES R.F.L., PHILLIPPO M., LEQUIN R.M., HACKENG W. H.L., BARLET J.P. et LARVOR P., 1970. Stimulation of calcitonin release from bovine thyroid by calcium and glucagon. J. Endocr. 48, 667-668.
- CARE A.D., COOPER C.W., DUNCAN T. et ORIMO H., 1968. The direct measurement of thyrocalcitonin secretion rate in vivo. In Parathyroid Hormone and Thyrocalcitonin, Excerpta Medica, Amsterdam, 417-427.
- CARE A.D., COPP D.H. et HENZE K.G., 1964. A study of factors affecting calcitonin secretion in the conscious sheep. J. Physiol., 176, 31, 32P.
- CARE A.D. et DUNCAN T., 1967 . Age as a factor in the response to thyrocalcitonin secretion. J. Endocr., 37, 107-108.
- CARE A.D., DUNCAN T. et WEBSTER D., 1966 . The effect of antithyroid drugs on the secretion of thyrocalcitonin. J. Endocr., 35, XXVII-XXVIII.
- CARE A.D. et GITELMAN H.J., 1968. The possible role of adenylyl-cyclase in thyrocalcitonin release. J. Endocr., 41, XXI-XXII.
- CARE A.D., KEYNES W.M. et DUNCAN T., 1966. An investigation into the parathyroid origin of calcitonin. J. Endocr. , 34, 299-318.
- CARE A.D., WEBSTER D. et DUNCAN T., 1966. Species variation to thyrocalcitonin. Abridged Proc. 4th European Symp. Calcified Tissues, Excerpta Medica, Intern. Congress Series n° 120, 13.

- CARLSTROM G., 1961. Studies on parturient paresis in dairy cows. IV. - Calcium and proteins in bovine serum normally, after parturition, and in parturient paresis. Acta Vet. Scand., 2, 330-349.
- CHAN A.S., CIPERA J.D. et BELANGER L.F., 1969. The ultimobranchial gland of the chick and its response to a high calcium diet. Rev. Can. Biol., 28, 19-31.
- CHARD T., BOYD N.R.H., FORSLING M.L., Mc NEILLY A.S. et LANDON J., 1970. The development of a radioimmunoassay for oxytocin : the extraction of oxytocin from plasma, and its measurement during parturition in human and goat blood. J. Endocr., 48, 223-234.
- CHASE L.R., FEDAK S.A. et AURBACH G.D., 1969. Activation of skeletal adenyl-cyclase by parathyroid hormone in vitro. Endocrinol., 84, 761-768.
- CHAUSMER A., MITTLEMAN R. et WALLACH S., 1966. Studies of thyrocalcitonin action. Endocrinol., 79, 131-137.
- CLANDININ D.R. et ROBBLEE A.R., 1966. Rapeseed meal for poultry. A review. W. Poultry Sci. J., 22, 217-232.
- CLARK M.B., BOYD G.W., BYFIELD P.G.H. et FOSTER G.V., 1969. A radioimmunoassay for human calcitonin M. Lancet, 2, 74-77.
- COCHLAN M., PEACOCK M., SACHS G. et NORDIN B.E.C., 1970. Renal effects of calcitonin. Brit. Med. J., 1, 135-137.
- COLLIGNON G., BAGHDIANZ A., BARET A., MOURA A.M. et BLANQUET P., 1970. Interactions thyroxine-calcitonine. Etude chez le rat carencé en iode. C.R. Acad. Sci., D, 271, 1552-1555.
- COOPER C.W., DEFTOS L.J. et POTTS J.T., 1971. Direct measurement of in vivo secretion of pig thyrocalcitonin by radioimmunoassay. Endocrinol., 88, 747-754.
- COOPER C.W., HIRSCH P.F. et TOVERUD S.U., MUNSON P.L., 1967. An improved method for the biological assay of thyrocalcitonin Endocrinol., 81, 610-616.
- COOPER C.W. et TASHJIAN A.H., 1966. Subcellular localization of thyrocalcitonin. Endocrinol., 79, 819-822.
- COPP D.H., BROOKS C.E., LOW B.S., NEWSOME F., O'DOI R.K., PARKES C.O., WALKER V. et WATTS E.G., 1970. Calcitonin and ultimobranchial function in lower vertebrates. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 281-294.
- COOP D.H. et CAMERON E.C., 1961. Demonstration of a hypocalcemic factor (calcitonin) in commercial parathyroid extract. Science, 134, 2038.
- COPP D.H., CAMERON E.C., CHENEY B., DAVIDSON A.G.F. et HENZE K.G., 1962. Evidence for calcitonin - a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. Endocrinol., 70, 638-649.

- COPP D.H. et CHENEY B., 1962. Calcitonin. A hormone from the parathyroid which lowers blood calcium. Nature, 193, 381-382.
- COPP D.H., COCKCROFT D.W. et KUEH Y., 1967a. Ultimobranchial origin of calcitonin: Hypocalcemic effect of extracts from chicken glands. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 45, 1095-1099.
- COPP D.H., COCKCROFT D.W. et KUEH Y., 1967b. Calcitonin from ultimobranchial glands of dogfish and chickens. Science, 158, 924-925.
- COPP D.H. et HENZE K.G., 1964. Parathyroid origin of calcitonin. Evidence from perfusion of sheep glands. J. Endocr., 31, XXXI-XXXII.
- COPP D.H. et KUCZERA A.N., 1968. A new bioassay for calcitonin and effect of age and dietary Ca on the response. In Calcitonin 1969. Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. W. Heinemann, London, 18-24.
- COPP D.H. et PARKES C.O., 1968. Extraction calcitonin from ultimobranchial tissues. In Parathyroid hormone and thyrocalcitonin; Excerpta Medica, Amsterdam, 74-84.
- CORRIOL J., JOANNY P., PAPY J.J., ROHNER J.J. et SOUVIGNET G., 1966. Etude expérimentale des crises convulsives chez le chien thyro-parathyréoprive. Arch. Sci. Physiol., 21, 381-414.
- CONRODI H. et JONSSON G., 1967. The formaldehyde fluorescence method for the histochemical demonstration of biogenic monoamines. J. Histochem. Cytochem., 15, 65-78.
- CSABA G., PETER I. et KISS J., 1969. Über die Endokrine Regelung des Blut-Kalziumspiegels. I. Anteilnahme des Thymus in der calcium-regulation der Ratte. Acta Med. Acad. Sci. Hungar., 26, 179-186.
- CUNLIFFE W.J., BLACK M.M., HALL R., JOHNSTON I.D.A., HUGSON P., SHUSTER S., GUDMUNSSON R.V., JOPLIN G.F., WILLIAMS E.D., WOODHOUSE N.J., GALANTE L. et MAC INTYRE I., 1968. A calcitonin secreting thyroid carcinoma. Lancet, 2, 63-66.
- CURRY D.L., BENNETT L.L. et GRODSKY G.M., 1966. Dynamics of insulin secretion by the perfused rat pancreas. Endocrinol., 83, 572-584.
- DAWSON J.B. et HEATON E.W., 1961. The determination of magnesium in biological materials by atomic absorption photometry. Biochem. J., 80, 99-106.
- DEFTOS L.J., LEE M.R. et POTTS J.T., 1968. A radioimmunoassay for thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 60, 293-299.
- DE GIUSEPPE L. et RINDI G., 1969. Influence of adrenal cortex on thyrocalcitonin content of the rat thyroid. Experientia, 25, 1099-1100.
- DELAFOLIE P., 1963. La parésie vitulaire de la vache laitière. Rec. Méd. Vét., 139, 1015-1026.

- DE LUISE M., MARTIN T.J. et MELICK R.A., 1970a. Tissue distribution of calcitonin in the rat : comparison with parathyroid hormone. J. Endocr., 48, 173-180.
- DE LUISE M., MARTIN T.J. et MELICK R.A., 1970b. Inactivation and degradation of porcine calcitonin by rat liver, and relative stability of salmon calcitonin. J. Endocr., 48, 181-188.
- DÖRRENHAUS A., KOHLER H. et LUCIANO L., 1971. Morphologische, histochemische und experimentelle Untersuchungen an den Parafollikulären Zellen der Schilddrüse. Z. Zellforsch., 112, 247-265.
- DRAGSTED L.R., SUDAN A.C. et PHILIPPS K., 1924. Studies on the pathogenesis of tetany. IV. The tetany of oestrus, pregnancy and lactation. Am. J. Physiol., 69, 477-497.
- DRYERRE H. et GREIG J.R., 1925. Milk-fever : its possible association with derangement in the internal secretions. Vet. Rec., 5, 225-231.
- DUNCAN T. et CARE A.D., 1967. The effect of anti-thyroid drugs on thyrocalcitonin secretion. Brit. J. Surg., 54, 196-198.
- EGYED M. et DELANGE A., 1967. Hypocalcaemia and hypermagnesaemia in lactating Awassi ewes. Refuah. Vet., 24, 36-34.
- EKHOLM R. et ERICSON L.E., 1968. The ultrastructure of the parafollicular cells of the thyroid gland in the rat. J. Ultrastructure Research, 23, 378-402.
- ENDER F. et DISHINGTON I.W., 1970. Etiology and prevention of paresis puerperalis in dairy cows. In Parturient hypocalcemia Academic Press, New York, 71-79.
- ERICSON L.E., 1968. Degranulation of the parafollicular cells of the rat thyroid by vitamin D2-induced hypercalcemia. J. Ultrastructural Research, 24, 145-149.
- ETCHEVERRY J.G. et ZIEHER L.M., 1968. Cytochemical localization of monoamines stores in sheep thyroid gland at the electron microscope level. Experientia, 24, 593-595.
- FAIRNEY A. et WEIR A.A., 1970. The effect of abnormal maternal plasma calcium levels on the offspring of rats. J. Endocr., 48, 337-345.
- FALCK B., HILLARP N.A., THIEME G. et TORP A., 1962. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem., 10, 348-354.
- FALCK B., LARSON B., MECKLENBURG C.V., ROSENGREN E. et SVENHEUS K., 1964. On the presence of a second specific cell system in mammalian thyroid gland. Acta Physiol. Scand., 62, 491-492.
- FALCK B., NYSTEDT T., ROSENGREN E. et STENFLO J., 1964. Dopamine and mast cells in ruminants. Acta Pharmacol., 21, 51-58.
- FALCK B. et OWMAN C., 1968. 5-hydroxytryptamine and related amines in endocrine cell systems. Adv. Pharmacology, 6, 211-231.
- FARAH F.S., KURBAN A.K. et CHAGLIASSIAN H.T., 1964. The effects of heat on antibody activity. J. Immunol., 93, 300-304.

- FARESE G., MAGER M. et BLATT N.F., 1970. A membrane ultrafiltration procedure for determining diffusible calcium in serum. Clin. Chem., 16, 226-228.
- FARNELL D.R. et WHITEHALL C.K., 1971. Influence of thyrocalcitonin in rats fed magnesium deficient and complete rations. Am. J. Vet. Res., 32, 131-148.
- FENWICK D.C., 1969. The downer-cow syndrome. Austr. Vet. J., 45, 184-188.
- FERRANDO R., CHARTON A. et CORNETTE M., 1960. Désordres métaboliques chez la vache laitière en élevage intensif. Rec. Méd. Vét., 136, 429-465.
- FIELD A.C. et SUTTLE N.F., 1967. Retention of calcium, phosphorus, magnesium, sodium and potassium by the developing sheep foetus. J. Agric. Sci., 69, 417-423.
- FISCH P.A., 1927. The physiology of milk-fever. Cornell Vet., 17, 99-120.
- FISCH P.A., 1929. The physiology of milk-fever. III. The blood phosphates and calcium. Cornell. Vet., 19, 147-160.
- FISHER E.W. et JENNINGS S., 1957. A closed circuit anaesthetic apparatus for adult cattle and for horses. Vet. Rec., 69, 679.
- FISHER E.W. et JENNINGS S., 1958. The use of fluothane in horses and cattle. Vet. Rec., 70, 567.
- FOLLEY J.S. et KNAGGS G.S., 1965. Levels of oxytocin in the jugular vein of goats during parturition. J. Endocr., 33, 301-315.
- FORBES J.M., 1970. The voluntary food intake of pregnant and lactating ruminants : a review. Br. Vet. J., 126, 1-11.
- FOSTER G.V., 1966. Thyrocalcitonin : failure to demonstrate a parathyroid releasing factor. Nature, 211, 1319-1320.
- FOSTER G.V., BAGHDIAantz A., KUMAR M.A., SLACK E., SOLIMAN H.A. et MAC INTYRE I., 1964. Thyroid origin of calcitonin. Nature, 202, 1303-1305.
- FOSTER G.V., BAGHDIAantz A., SOLIMAN H. A. et MAC INTYRE I., 1965. Some chemical and physical properties of calcitonin. Biochem. J., 94, 95P.
- FOSTER G.V., DOYLE F.H., BORDIER P. et MATRAJT H., 1966. Effect of thyrocalcitonin on bone. Lancet, 2, 1428-1431.
- FOSTER G.V., MAC INTYRE I. et PEARSE A.G.E., 1964. Calcitonin production and the mitochondrion-rich cells of the dog thyroid. Nature, 203, 1029-1030.
- FRANKEL S. et YASUMURA S., 1970. Intrathyroidal thyrocalcitonin levels in neonatal and adult rats. Endocrinol., 87, 602-605.

- FRANKEL S. et YASUMURA S., 1971. Changes in the thyroïdal content of thyrocalcitonin produced by vitamin D in rats. Endocrinol., 88, 267-270.
- FRIEDMAN J., AU W.Y.W. et RAISZ L.G., 1968. Response of fetal rat bone to thyrocalcitonin in tissue culture. Endocrinol., 82, 149-156.
- FUJITA T., ORIMO H., OHATA M. et YOSHIKAWA M., 1967. A test on the recovery from hypercalcemia for evaluation of thyrocalcitonin activity in man. Endocrinol. Japon., 14, 246-250.
- GABE M., 1959. Données histochimiques sur les cellules parafolliculaires de la glande thyroïde du chien. Acta Anat., 38, 332-344.
- GABE M., 1961. Données histologiques sur les macrothyrocytes (cellules parafolliculaires) de quelques sauropsidés et anamniotes. Acta Anat., 47, 34-54.
- GAILLARD P.J., 1967. Bone culture studies with thyrocalcitonin. Koninkl. Nederl. Akadem. Van Wetenschappen, C, 70, 306-320.
- GAILLARD P.J. et THESING C.W., 1968. Bone culture studies with thyrocalcitonin. In Calcitonin. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells. W. Heinemann, London, 238-245.
- GALANTE L., GUDMUNDSSON T.V., HORTON R., WOODHOUSE N.J.Y., MAC INTYRE I., BURROWS P. et ROBINSON C.J., 1970. Studies in calcitonin M and D. Calc. Tiss. Res., 4, (suppl.), 84-85.
- GALANTE L., GUDMUNDSSON T.V., MATTHEWS E.T., TSE A., WILLIAMS E.D., WOODHOUSE N.J.Y. et MAC INTYRE I., 1968. Thymic and parathyroid origin of calcitonin in man. Lancet, 2, 537-539.
- GALANTE L., HORTON R., WIGGINS R.C., GUDMUNDSSON T.V. et MAC INTYRE I., 1970. The calcitonin-like action of streptomycine. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 427-433.
- GAREL J.M. et DUMONT C., 1971. Vitesse de disparition de la calcitonine porcine chez le fœtus de rat. C.R. Acad. Sci., D, 272, 1279-1282.
- GAREL J.M., MILHAUD G. et JOST A., 1968. Action hypocalcémisante et hypophosphatémisante de la thyrocalcitonine chez le fœtus de rat. C.R. Acad. Sci., D, 267, 344-347.
- GAREL J.M., MILHAUD G. et SIZONENKO P., 1970. Inactivation de la thyrocalcitonine porcine par différents organes fœtaux et maternels du rat. C.R. Acad. Sci., D, 270, 2469-2471.
- GARM O., 1950. Changes in the blood, adrenals and hypophysis in bovine parturient paresis and eclampsia. A preliminary report. Acta Endocrinol., 5, 413-424.
- GEROLA E., 1962. Hormones and milk-fever. Gazz. Vet., 15, 12-14.
- GERSHON M.D. et NUNEZ E., 1970. Histochemical and radioautographic studies of serotonin and parafollicular cells in the thyroid gland of the prehibernating bat. Endocrinol., 86, 160-166.

- GITTES R.F. et IRVIN G.L., 1965. Thyroid and parathyroid roles in hypercalcemia : evidence for a thyrocalcitonin-releasing factor. Science, 148, 1737-1739.
- GITTES R.F., TOVERUD S.U. et COOPER C.W., 1968. Effects of hypercalcemia and hypocalcemia on the thyrocalcitonin content of rat thyroid glands. Endocrinol., 82, 83-90.
- GREIG J.E., 1929. The nature of lambing sickness. Vet. Rec., 9, 509-511.
- GRIMELIUS L., 1968. A silver nitrate stain for α_2 cells in human pancreatic islets. Acta Soc. Med. Uppsaliensis, 73, 243-270.
- GRUSON M., CERLAND M., MIRAVET L., PAUL J. et HIOCO D., 1970. Action de la calcitonine de porc sur le transfert in vitro du Ca 45 au niveau du duodénum de rat normal et thyroparathyroïdectomisé. C.R. Acad. Sci., D, 270, 1014-1017.
- GUARDABASSI A., DORE B. et CLERICI P., 1968. La calcemia in rospic adulti normali privati del corpo prepericardico trattati con parathormone e con calcitonina. Primi risultati. Ric. Sci., 38, 742-744.
- GUDMUNDSSON T.V., BYFIELD P.G.H., DE BATS A., SLACK E., KATZ F.E. et MAC INTYRE I., 1966. Isolation of porcine calcitonin. Biochem. J., 99, 14-15P.
- GUDMUNDSSON T.V., GALANTE L., WOODHOUSE N.J.Y., MATTHEWS E.W., OSAFO T.D., MAC INTYRE I., KENNY A.D. et WIGGINS R.C., 1969. Plasma calcitonin in man. Lancet, 1, 443-446.
- GUDMUNDSSON T.V., MAC INTYRE I. et SOLIMAN H.A., 1966. The isolation of thyrocalcitonin and a study of its effects in the rat. Proc. Roy. Soc., B Biol. Sci., 164, 460-477.
- HACHMEISTER U., KRACHT J., BRUSE K. et LENKE M., 1967. Lokalisation von C. Zellen im Ultimobranchialkörper des Haushuhns. Naturwissenschaften, 54, 619.
- HADDAD J.G., BIRGE S.J. et AVIOLI L.V., 1969. Effects of prolonged thyrocalcitonin administration on Paget's disease of bone. Clin. Res., 17, 552.
- HALLGREEN W., 1955. Studies on parturient paresis in dairy cows. Nord. Vet. Med., 7, 433-463.
- HALLGREEN W., CARLSTRÖM G. et JONSSON G., 1959. Studies on Parturient Paresis in dairy cows. III. Determination of calcium ion concentration in bovine serum in different hypocalcemic and pseudohypocalcemic conditions. Nord. Vet. Med., 11, 217-249.
- HALSE K., 1958. Hypocalcemia accompanied by changes in blood magnesium in starving cows. Nord. Vet. Med., 10, 1-8.
- HARRIS E.D. et SJOERDSMA A., 1966. Effect of parathyroid extract on collagen metabolism. J. Clin. Endocrinol. Metab., 26, 358-359.
- HATTNER R.S., BERNSTEIN D.S., ALIAPOULIOS M.A., GEORGE B. et ROSE E., 1970. The hypocalcaemic activity of glucagon : demonstration of independence from endogenous calcitonin secretion in the rat. Acta Endocrinol., 64, 726-736.

- HAYNES R.C., SUTHERLAND E.W. et RALL T.W., 1960. The role of cyclic adenylic acid in hormone action. Recent Progr. Hormone Research, 16, 121-138.
- HAYS M.T., SOLOMON D.H. et BEALL G.N., 1967. Suppression of human thyroid function by antibodies to bovine thyrotropin. J. Clin. Endocr. Metab., 27, 1540-1549.
- HEMINGWAY R.G. et RITCHIE N.S., 1965. The importance of hypocalcemia in the development of hypomagnesemic tetany. Proc. Nutr. Soc., 24, 54-63.
- HEMSLEY L.A., 1957. Some observations on milk-fever. Vet. Rec., 69, 464-468.
- HERD R.P., 1966. Fasting in relation to hypocalcaemia and hypomagnesaemia in lactating cows and ewes. Australian Vet. J., 42, 269-272.
- HIBBS J.W., 1948. Studies of some of the nutritional and physiological aspects of milk-fever in dairy cows. Abstr. Doct. Diss. Ohio Univ., 54, 163-179.
- HINDBERG I. et SØRENSEN O.H., 1971. The effect on bone of long-term treatment of intact, parathyroidectomized and thyroparathyroidectomized rats with calcitonin. Acta endocrinol., 66, 137-150.
- HINDE F. et PHILLIPPO M., 1968. The effect of oestrogen on the response to thyrocalcitonin in the rat. J. Physiol., 194, 43P.
- HIRSCH P.F., 1967. Thyrocalcitonin inhibition of bone resorption induced by parathyroid extract in thyroparathyroidectomized rats. Endocrinol., 80, 539-541.
- HIRSCH P.F. et COOPER C.W., 1968. Nutritional factors in relation to thyrocalcitonin. In Parathyroid hormone and thyrocalcitonin, Excerpta Medica, Amsterdam, 381-391.
- HIRSCH P.F., GAUTHIER G.C. et MUNSON P.L., 1963. Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting the response to parathyroidectomy in rats. Endocrinol., 73, 244-252.
- HIRSCH P.F. et MUNSON P.L., 1966. Importance of the thyroid gland in the prevention of hypercalcemia in rats. Endocrinol., 79, 655-658.
- HIRSCH P.F., VOELKEL E.F. et MUNSON P.L., 1964. Thyrocalcitonin : hypocalcemic hypophosphatemic principle of the thyroid gland. Science, 146, 412-413.
- HODGES R.D., 1970. The structure of the fowl's ultimobranchial gland. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 10, (suppl. 2), 255-279.
- HODGES R.D. et GOULD R.P., 1969. Partial nervous control of the avian ultimobranchial body. Experientia, 25, 1317-1319.

- HURST J.G. et NEWCOMER W.S., 1969. Functional accessory parathyroid tissue in ultimobranchial bodies of chickens. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 132, 555-557.
- HURTHLE K., 1894. Beiträge zur Kenntnis des Secretionsvorganges in der Schilddrüse. Pflügers Arch. gen. Physiol., 56, 1-44.
- HUTYRA F., MAREK J. et MANNIGER F., 1938. In Special Pathology and Therapeutics of the diseases of domestic animals, 4ème édition, J.R. GREIG Edit.
- INSKEEP E.K. et KENNY A.D., 1968. Calcium homeostasis in thyroidectomized sheep. Endocrinol., 83, 183-185.
- ISHIKAWA K., 1965. Electron microscopical studies of the ultimobranchial body of the rat in embryonic life, with special emphasis on its fate. The relation to the thyroid tissue and parafollicular cells. Okajimas Fol. Anat. Jap., 41, 313-335.
- JACKSON H.D., PAPPENHAGEN A.R., GOETSCH G.D. et NOLLER C.H., 1962. Effect of parathyroid hormone on calcium and other plasma constituents of dairy cattle near parturition. J. Dairy Sci., 45, 897-903.
- JACKSON H.D., QUIST R.A., ALTER M.E., MARTZ E.T. et NOLLER C.H., 1970. Partial purification of hypocalcemic proteins from plasma of parturient dairy cows. In Parturient Hypocalcemia, Academic Press, New York, 195-205.
- JOHNSTON C.C. et DEISS W.P., 1966. An inhibitory effect of thyrocalcitonin on calcium release in vivo and on bone metabolism in vitro. Endocrinol., 78, 1139-1143.
- JONSGARD K., 1965. The effect of complete versus partial milking after parturition upon the occurrence of parturient paresis in dairy cows. Nord. Vet. Med., 17, 386-390.
- JONSSON G., 1960. On the etiology and pathogenesis of parturient paresis in dairy cows. Acta Agricult. Scand., suppl. 8, 78 pages.
- JOURNET M. et DEMARQUILLY C., 1968. Le rationnement énergétique des vaches laitières. Les systèmes d'alimentation. Bulletin C.E.T.A., Etude n° 1343. 1-11.
- JUBB K.V. et Mc ENTREE K., 1959. The relationship of ultimobranchial remnants and derivatives to tumors of the thyroid gland in cattle. Cornell Vet., 49, 41-69.
- KALINA M. et PEARSE A.G.E., 1970. Ultrastructural localization of biogenic amines in C cells of mice. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 262-267.
- KALU D.N. et FOSTER G.V., 1971. Effect of calcitonin on (³H) proline incorporation into bone hydroxyproline in the rat. J. Endocrinol., 49, 233-241.
- KAPPERS ARIENS J., 1971. The pineal organ : an introduction. In The pineal gland, Symposium of the Ciba Foundation, Churchill Livingstone, London, 3-25.

- KAYSER C., PETROVIC A. et PORTE A., 1961. Variations ultrastructurales de la parathyroïde du hamster ordinaire (Cricetus Cricetus) au cours du cycle saisonnier. C.R. Soc. Biol., 155, 2178-2185.
- KENDALL K.A., HARSHBARGER K.E., HAYS R.L. et ORMISTON E.E., 1970. Blood serum composition associated with prepartum diet and colostrum removal in relation to parturient paresis. In Parturient Hypocalcemia, Academic Press, New York, 55-70.
- KENNY A.D. et HEISKELL C.A., 1965. Effect of crude thyrocalcitonin on calcium and phosphorus metabolism in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 120, 269-271.
- KIYAMA H., TOTSUKA S. et YOSHIMURA F., 1968. Chronic changes of the parafollicular cells in the rats fed diet of high or low calcium content. Endocrinol. Jap., 15, 439-455.
- KLEIN D.C., MORII H. Et TALMAGE R.V., 1967. Effect of thyrocalcitonin, administered during peritoneal lavage, on removal of bone salts and their radioisotopes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 124, 627-633.
- KLEIN D.C. et TALMAGE R.V., 1968a. Thyrocalcitonin suppression of hydroxyproline release from bone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 127, 95-99.
- KLEIN D.C. et TALMAGE R.V., 1968b. Evidence for the secretion of thyrocalcitonin at normal and subnormal plasma calcium levels. Endocrinol., 82, 132-136.
- KLOTZ H.P., 1967. Essai préliminaire de classement des syndromes d'hyper et d'hyposécrétion en calcitonine. Sem. Hôp., 47, 2925-2928.
- KLOTZ H.P. et ZEITOUN V.P., 1962. La tétanie de la femme enceinte. Problèmes actuels d'Endocrinologie et de Nutrition, 6, 289-334.
- KRACHT J., HACHMEISTER U. et BREUSTED H.J., 1968. Immunohistological studies on thyrocalcitonin in C cells. Endokrinologie, 52, 395-401.
- KROOK L., LUTWAK L. et Mc ENTEE K., 1969. Dietary calcium, ultimobranchial tumors and osteopetrosis in the bull. Syndrome of calcitonin excess. Amer. J. Clin. Nutr., 22, 115-118.
- KRUSE H., 1971. APUD Mechanismen bei unterschiedlichen Funktionszuständen der C Zellen. Endokrinologie, 57, 201-224.
- KUKOVETZ W.R. et POCH G., 1970. Cardiotstimulatory effects of cyclic 3'-5' adenosine monophosphate and its acetylated derivatives. Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 266, 236-254.
- KUMAR M.A., SLACK E., EDWARDS A., SOLIMAN H.A., BAGHDIA NTZ A., FOSTER G.V. et MAC INTYRE I., 1965. A biological assay for calcitonin. J. Endocr., 33, 469-475.
- LALJEE H.C.K., SMITH R.N. et DORRINGTON K.J., 1967. The assay of human calcitonin in mice. J. Endocr., 39, 507-516.

- LANGER B., PEYTREMAN A., RUFENER C. et JENNY M., 1971. Effets comparés de l'administration d'une dose unique de calcitonine synthétique (de type humain et de type saumon) chez l'homme normal et les sujets atteints de maladie de Paget ou d'hypercalcémie. Schweiz. Mediz. Woch., 101, 69-80.
- LARSON B., OWMAN C. et SUNDLER F., 1966. Monoaminergic mechanisms in parafollicular cells of the mouse thyroid gland. Endocrinology, 78, 1109-1114.
- LARVOR P. et BARLET J.P., 1968. Quelques aspects récents du métabolisme calcique : applications à la physiologie et à la pathologie des Ruminants. Ann. Nutr. Alim., 22, 155-190.
- LARVOR P., BROCHART M. et THENET M., 1961. Enquête sur la fièvre vitulaire et la tétanie d'herbage des bovins en France. Econ. Méd. Anim., 2, 5-38.
- LARVOR P., GIRARD A. et BROCHART M., 1964. Etude la carence expérimentale en magnésium chez le veau. II. Interférence entre la carence en magnésium et le métabolisme du calcium. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 4, 371-382.
- LE DOUARIN N. et LE LIEVRE C., 1970. Démonstration de l'origine neurale des cellules à calcitonine du corps ultimobranchial de l'embryon de poulet. C.R. Acad. Sci., D, 270, 2857-2860.
- LEE J.B., TASHJIAN A.H., STREETO J.M. et FRANTZ A.G., 1968. Familial pseudohypoparathyroidism. Role of parathyroid hormone and thyrocalcitonin. New England J. Med., 279, 1179-1184.
- LEE M.R., DEFTOS L.J. et POTTS J.T., 1969. Control of secretion of thyrocalcitonin in the rabbit as evaluated by radioimmunoassay. Endocrinology, 84, 36-40.
- LEGGATE J., CARE A.D. et FRAZER S.C., 1969. Evidence for thyrocalcitonin binding to protein in plasma. J. Endocr., 43, 73-81.
- LELOIR L.F. et CARDINI C.E., 1961. The biosynthesis of lactose. In Milk : the mammary gland and its secretion, KON S.K. et COWIE A.T., Edit., Acad. Press., 371-388.
- LEQUIN R.M., HACKENG W.H.L. et SCHOPMAN W., 1969. A radioimmunoassay for porcine calcitonin. J. Endocr., 44, 283-284.
- LEQUIN R.M., HACKENG W.H.L., SCHOPMAN W. et CARE A.D., 1969. Comparison between the bioassay and radioimmunoassay of calcitonin in plasma of several species. J. Endocr., 45, 309-310.
- LEVEY G.S., ROTH J. et PASTAN I., 1969. Effect of propranolol and phentolamine on canine and bovine responses to TSH. Endocrinology, 84, 1009-1015.
- LEWIS P., RAFFERTY B., SHELLEY M. et ROBINSON C.J., 1971. A suggested physiological role of calcitonin : the protection of the skeleton during pregnancy and lactation. J. Endocr., 49, IX-X.

- LEWIS R.C. et RALSTON N.P., 1953. Protein bound iodine levels in dairy cattle plasma. J. Dairy Sci., 36, 33-38.
- LIETZ H., 1970. Zur Ultrastruktur der C-Zellen in der Rattenschilddrüse bei gestörtem Calciumstoffwechsel. Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 350, 136-149.
- LINDSAY S. et NICHOLS C.W., 1969. Medullary thyroid carcinoma and parathyroid hyperplasia in rats. Arch. Path., 88, 402-406.
- LITTLE W.L. et WRIGHT N.C., 1925. The aetiology of milk-fever in cattle. Brit. J. Exptl. Path., 6, 129-134.
- LITTLE W.L. et WRIGHT N.C., 1926. A review of some of the modern theories of milk-fever. Vet. J., 82, 185-191.
- LITTLEDIKE E.T., WHIPP S.C. et SCHROEDER L., 1969. Studies on milk-fever. J.A.V.M.A., 155, 1955-1962.
- LITTLEDIKE E.T., WHIPP S.C., WITZEL D.A. et BAETZ A.L., 1970. Insulin corticoids and parturient paresis. In Parturient Hypocalcemia, Academic Press, New York, 165-176.
- LITTLEDIKE E.T., WITZEL D.A. et WHIPP S.C., 1968. Insulin : evidence for inhibition of release in spontaneous hypocalcemia. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 129, 135-139.
- LITTLEJOHN A.I. et HEBERT C.N., 1969. Moss-ill : a possible hypocalcaemia of hill ewes. Vet. Rec., 84, 130-134.
- LLOYD J.W. et COLLINS W.E., 1970. Hypomagnesemic effect of avian calcitonin. Poultry Sci., 49, 446-448.
- LONG J.F., GILMORE L.O., CURTIS G.M. et RIFE D.C., 1951. The bovine protein bound iodine as related to age, sex and breed. J. Anim. Sci., 10, 1027-1028.
- LOPEZ E., DEVILLE J. et BAGOT E., 1968. Etude histophysiologique du corps ultimobranchial d'un téléostéen "Anguilla anguilla L." au cours d'hypercalcémies expérimentales. C.R. Acad. Sci., D, 267, 1531-1534.
- LOUBATIERES A. et MARIANI M.M., 1970a. Détermination pharmacologique de la nature du récepteur β adrénergique impliqué dans la sécrétion d'insuline : importance du récepteur β_2 . C.R. Acad. Sci. D, 270, 3321-3324.
- LOUBATIERES A. et MARIANI M.M., 1970b. Preuve pharmacologique directe que les récepteurs β adrénergiques impliqués dans l'insuline sécrétion sont de type β_2 . C.R. Acad. Sci., D, 271, 1046-1048.
- LUFT J.H., 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 409-414.
- LUTHMAN J., 1970. Norepinephrine induced hypocalcemia in sheep. Acta Vet. Scand., 11, 327-328.
- MAC INTYRE I., 1970. Human calcitonin : practical and theoretical consequences. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 1-13.

- MAC INTYRE I., FOSTER G.V. et KUMAR M.A., 1965. The thyroid origin of calcitonin. In the Parathyroid glands, University of Chicago Press, 89-104.
- MAC INTYRE I. et PARSON J.A., 1966. Blood bone calcium equilibrium in the perfused cat tibia and the effect of thyroid calcitonin. J. Physiol., (London), 183, 31-33P.
- MAC MANUS J.P. et HEATON F.W., 1970. The influence of magnesium on calcium release from bone in vitro. Biochim. Biophys. Acta, 215, 360-367.
- MAC MANUS J.P. et WHITFIELD J.F., 1970. Inhibition by thyrocalcitonin of mitogenic actions of parathyroid hormone and cyclic adenosine 3'5' monophosphate on rat thymocytes. Endocrinol., 86, 934-939.
- MAIER R., NEHER R., RITTEL W. et STAEHELIN M., 1970. Comparison of thy hypocalcemic response between human and porcine calcitonins. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 381-385.
- MAKELA A., 1963. Parturient and metabolic disorders in the cow and their influence upon milk production. Maaloustieteellinen Aikakauskirja, 35, 143-164.
- MALAISSE W.J., MALAISSE-LAGAE F. et MAYHEW D., 1967. A possible role for the adenyl-cyclase system in insulin secretion. J. Clin. Invest., 46, 1724-1734.
- MANNS J.G., 1969. Stimulation of glucagon and insulin release in sheep by propionate and butyrate. Fed. Proc., 28, 491 (Abstract).
- MANSTON R., 1964. Investigation of the effects of vitamin D₃ on calcium and phosphorus metabolism in cows using calcium 45 and phosphorus 32. Brit. Vet. J., 120, 365-371.
- MANSTON R., 1967. The influence of dietary calcium and phosphorus concentration on their absorption in the cow. J. Agric. Sci., 68, 263-268.
- MANSTON R. et PAYNE J.M., 1964. Mineral mibalance in pregnant "milk-fever prone" cows and the value and possible toxic effects of treatment with vitamin D₃ and dihydrotachysterol. Brit. Vet. J., 120, 167.
- MANUNTA G., MARONGIU A. et NUVOLE P., 1963a. Passage of ⁴⁵Ca from colostrum to blood in the cow under normal conditions and during mammary insufflation. Bull. Soc. Ital. Biol. Sper., 39, 1318-1321.
- MANUNTA G., MARONGIU A. et NUVDLE P., 1963b. Inflation of the udder and passage of radioactive calcium from the milk into the blood. Arch. Vet. Ital., 14, 325-340.
- MARR A., MOODIE E.W. et ROBERTSON A., 1955. Some biochemical and clinical aspects of milk-fever. J.Comp. Path., 65, 347-365.
- MARSHAK R.R., 1956. Studies on Parturient Paresis in dairy cows with particular reference to udder insufflation. J.A.V.M.A., 128, 423-431.

- MARTIN T.J., ROBINSON C.J. et MAC INTYRE I., 1966. The mode of action of thyrocalcitonin. Lancet, 1, 900-902.
- MASSRY S.G., COBURN J.W. et KLEEMAN C.R., 1970. Evidence for suppression of parathyroid gland activity by hypermagnesemia. J. Clin. Invest., 49, 1619-1629.
- MATTICK E.C.V. et LITTLE W.L., 1933. The calcium content of cow's blood. II - a. Calcium in the blood of parturient heifers. b. Effects of the injection of parathyroid extract. c. Some cases report of milk-fever. Vet. Rec., 13, 1091-1097.
- MATSUZAWA T., 1966. Experimental morphological studies on the parafollicular cells of the rat thyroid gland with special reference to the source of thyrocalcitonin. Arch. Histol. Jap., 27, 521-544.
- MATSUZAWA T. et KUFOSUMI K., 1967. Morphological changes in the parafollicular cells of the rat thyroid glands after administration of calcium shown by electron microscopy. Nature, 213, 927-928.
- MAYER G.P., 1970. Possible relation of calcitonin to the development of hypocalcemia in parturient cows. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 386-391.
- MAYER G.P., RAMBERG C.F. et KRONFELD D.S., 1966a. Parathyroidectomy of the bovine. J. Dairy Sci., 49, 1288-1291.
- MAYER G.P., RAMBERG C.F. et KRONFELD D.S., 1966b. Hypocalcemia without paresis in cows. J.A.V.M.A., 149, 402-405.
- MAYER G.P., RAMBERG C.F. et KRONFELD D.S., 1967. Udder insufflation and its physiologic basis for treatment of parturient paresis in cattle. J.A.V.M.A., 151, 1673-1680.
- MAYER G.P., RAMBERG C.F., KRONFELD D.S., BUCKLE R.M., SHERWOOD L.M., AURBACH G.D. et POTTS J.T., 1969. Plasma parathyroid hormone concentration in hypocalcemic parturient cows. Am. J. Vet. Res., 30, 1587-1597.
- MAZZUOLI G.F., COEN G. et ANTONOZZI I., 1967. Study on calcium metabolism, thyrocalcitonin assay and effect of thyroidectomy in pseudo-hypoparathyroidism. Israël J. Med. Sci., 3, 627-638.
- MAZZUOLI G.F., TERRENATO L., COEN G. et ANTONOZZI I., 1966. Effects of thyrocalcitonin on bone and renal excretion of calcium 45 and strontium 85 in the rat. Folia Endocrinol., 19, 7-13.
- MELANCON M.J. et DE LUCA H.F., 1969. Interrelationship between thyrocalcitonin, parathyroid hormone and vitamin D : control of serum calcium in hypervitaminosis D. Endocrinol., 85, 704-710.
- MENEZ P., 1966. Sur un syndrome parétique aigu des juments en Bretagne. Thèse Doct. Vét., Alfort, 45 pages.
- MENIGOT M., GAILLARD G. et THIEBLOT L., 1970. Influence de la pinéalectomie sur le métabolisme calcique chez le rat. J. Physiol. (Paris), 62, (suppl. 1), 189.

- MICHEL M.C., 1971. Analyse quantitative de quelques substances azotées et glucidiques en milieu biologique. Essai de rationalisation. Thèse Doct. Université, Clermont-Ferrand, 79 pages.
- MILHAUD G., 1968. Utilization of thyrocalcitonin in man in normal and pathological conditions. In Parathyroid Hormone and Thyrocalcitonin, Excerpta Medica, Amsterdam, 86-99.
- MILHAUD G., BLANUSA M., THARAUD D., LE DU M. et PERAULT-STAU B A.M., 1969. La thyrocalcitonine augmente-t-elle la masse calcique du rat en croissance ? C.R. Acad. Sci., D, 268, 389-392.
- MILHAUD G., BOURICHON J. et AUBERT J.P., 1962. Etude du métabolisme du calcium dans la spasmophilie chronique normocalcémique et dans l'hyperparathyroïdisme. Problèmes actuels d'Endocrinologie et de Nutrition, 6, 237-243.
- MILHAUD G., CALMETTES G., DREYFUSS G. et MOUKHTAR M.S., 1970. An unusu thyroid cancer producing calcitonin. Experientia, 26, 1381-138
- MILHAUD G., CALMETTES G., RAYMOND J.P., BIGNON J. et MOUKHTAR M.S., 1970. Carcinoïde sécrétant de la thyrocalcitonine. C.R. Acad. Sci., D, 270, 2195-2198.
- MILHAUD G. et HANKISS J., 1969. Inactivation de la thyrocalcitonine par divers organes. C.R. Acad. Sci., D, 268, 124-127.
- MILHAUD G., LI TSIE N MING et MOUKHTAR M.S., 1967. Synergie et antagonisme de la thyroxine, de la parathormone et de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie. C.R. Acad. Sci., D, 264, 846-849.
- MILHAUD G., LI TSIE N MING, NESRALLA H., MOUKHTAR M.S. et PERAULT-STAU B A.M., 1968. Studies on the mode of action and therapeutic use of thyrocalcitonin. In Calcitonin, Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells, W. Heinemann, London, 347-361.
- MILHAUD G. et MOUKHTAR M.S., 1965. Hypophysectomie et thyrocalcitonine. C.R. Acad. Sci. D, 260, 3179-3182.
- MILHAUD G. et MOUKHTAR M.S. 1966a. Thyrocalcitonin : effects on calcium kinetics in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 123, 207-209.
- MILHAUD G. et MOUKHTAR M.S., 1966b. Antagonistic and synergistic actions of thyrocalcitonin and parathyroid hormone on the levels of calcium and phosphate in the rat. Nature, 211, 1186-1187.
- MILHAUD G., MOUKHTAR M.S., BOURICHON J. et PERAULT A.M., 1965. Existence et activité de la thyrocalcitonine chez l'homme. C.R. Acad. Sci., D, 261, 4513-4516.
- MILHAUD G., MOUKHTAR M.S., CHERIAN G. et PERAULT A.M., 1964. Inhibition de l'action hypercalcémiante de la parathormone par l'Actinomycine D. C.R. Acad. Sci., D, 259, 896-898.

- MILHAUD G., MOUKHTAR M.S., CHERIAN G. et PERAULT A.M., 1966. Effets de l'administration de thyrocalcitonine sur les principaux paramètres du métabolisme du calcium du rat normal et du rat thyroparathyroïdectomisé. C.R. Acad. Sci., D, 262, 511-514.
- MILHAUD G., MOUKHTAR M.S., PERAULT-STAUB A.M., COUTRIS G., ARDAILLOU R., BLOCH-MICHEL H., GAREL J.M., KLINGER E., TUBIANA M. et SIZONENKO P.C., 1970. Studies in thyrocalcitonin. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 182-193.
- MILHAUD G., PERAULT A.M. et MOUKHTAR M.S., 1965. Etude du mécanisme de l'action hypocalcémisante de la thyrocalcitonine. C.R. Acad. Sci., D, 261, 813-816.
- MILHAUD G. et PERAULT-STAUB A.M., 1968. Surcharge en calcium, thyrocalcitonine et catabolisme osseux. C.P. Acad. Sci., D, 266, 1410-1413.
- MILHAUD G., PERAULT-STAUB A.M. et MOUKHTAR M.S., 1967. Thyrocalcitonine : effet de l'âge sur l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie. C.R. Acad. Sci., D, 264, 110-113.
- MILHAUD G., PERAULT-STAUB A.M. et MOUKHTAR M.S., 1968. Etude du mécanisme de l'effet hypocalcémiant du phosphate minéral et de l'interaction éventuelle avec la thyrocalcitonine. C.R. Acad. Sci., D, 266, 1169-1172.
- MILHAUD G., TUBIANA M., PARMENTIER C. et COUTRIS G., 1968. Epithélioma de la thyroïde sécrétant de la thyrocalcitonine. C.R. Acad. Sci., D, 266, 608-610.
- MILINE R., KRSTIC R., 1966. Sur l'histophysiologie corrélative de la glande pinéale et des glandes parathyroïdes. Z. Zellforsch., 69, 428-437.
- MILINE R., SCEPOVIC M., KRSTIC R., 1967. Influence de l'épiphyséctomie sur les cellules parafolliculaires de la glande thyroïde. Bull. Assoc. Anat., 52, 893-898.
- MOODIE E.W., 1968a. The effect of posterior pituitary hormones on the calcium, magnesium and phosphate and chloride metabolism of sheep. Q. Jl. Exp. Physiol., 53, 250-261.
- MOODIE E.W., 1968b. The effect on the plasma calcium and phosphate of lambs of transfusing plasma from parturient and non parturient cows. Res. Vet. Sci., 9, 189-196.
- MOODIE E.W., MARR A. et ROBERTSON A., 1955. Serum calcium and magnesium and plasma phosphate levels in normal parturient cows. J. Comp. Path., 65, 20-36.
- MOODIE E.W. et ROBERTSON A., 1961. Dietary intake of the parturient cow. Res. Vet. Sci., 2, 217-226.
- MORAIN W.D. et ALIAPOULIOS M.A., 1968. Comparative hypocalcemic effects of thyrocalcitonin and glucagon. Proc. 3rd Intern. Congress Endocrinol., Congress series n° 157, Excerpta Medica, Amsterdam, 6 (Abstract).
- MOREY E.R., 1966. Endogenous thyrocalcitonin : effect on serum calcium in fed and fasted rats and in parathyroid transplanted rats. Endocrinol., 79, 191-196.

- MORII H., IBAYSAHI H., SHIMAZAWA E. et ASANO H., 1970. Factors influencing bioassay of porcine and human calcitonin. Endocrinol. Jap., 17, 157-164.
- MORII H. et TALMAGE R.V., 1966. Effect of iodide deficiency on thyrocalcitonin secretion. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 122, 383-384.
- MOSELEY J.M., MATTHEWS E.W., BREED R.H., GALANTE L., TSE A. et MAC INTYRE I., 1968. The ultimobranchial body and parathyroid gland in the chicken. Amer. J. Physiol., 218, 1718-1722.
- MOUPA A.M., 1970. Contribution à l'étude de quelques propriétés physiologiques de la calcitonine : mise en évidence de l'interaction thyroxine-calcitonine au niveau de l'os. Thèse Doct. Etat Sci. Nat., Bordeaux, 166 pages.
- MUELLER G.L., ANAST C.S. et BREITENBACH F.P., 1970. Dietary calcium and ultimobranchial body and parathyroid gland in the chicken. Amer. J. Physiol., 218, 1718-1722.
- MUIR L.A., HIBBS J.W., CONRAD H.R. et SMITH K.L., 1970. Influence of estrogen and progesterone on the ability of mature dairy cows to mobilize calcium. J. Dairy Sci., 53, 682 (Abstract).
- MUNSON P.L., 1955. Studies on the role of the parathyroids in calcium and phosphorus metabolism. Ann. N.Y. Acad. Sci., 60, 776-796.
- MUNSON P.L., HIESCH P.F., TASHJIAN A.H. et ALIAPOULIOS M.A., 1966. Calcitonin and thyrocalcitonin : evaluation of hypocalcemic factors. In Methods in Drug Evaluation, P. Mantegazza et P. Piccini Edit., Amsterdam, 467-480.
- MUFAD F., BREWER H.B. et VAUGHAN M., 1970. Effect of thyrocalcitonin on adenosine 3' 5'-Cyclic phosphate formation by rat kidney and bone. Proc. Nat. Acad. Sci., 65, 446-453.
- MURPHY H.M., 1969. A review of inherited osteopetrosis in the mouse. Man and other mammals also considered. Clin. Orthop. Rel. Res., 65, 97-109.
- NAYLER W.G., Mc INNES I., CHIPPERFIELD D., CARSON V. et DAILE P., 1970. The effect of glucagon on calcium exchangeability, coronary blood flow, myocardial function and high energy phosphate stores. J. Pharmacol. Exp. Ther., 171, 265-275.
- NEED R.M., PARSONS J.A., KRANE S.M., DEFTOS L.J., SHIELDS C.L., COPP D.H. et POTTS J.T., 1970. Pharmacology of calcitonin : human studies. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 547-554.
- NEHER P., RINIKER B., RITTEL W. et ZUBER H., 1968. Menschliches Calcitonin. III. Struktur von Calcitonin M und D. Helv. Chim. Acta, 51, 1900-1905.
- NEHER P., RINIKER B., MAIER R., BYFIELD P.G.H., GUDMUNDSSON T.V. et MAC INTYRE I., 1968. Human calcitonin. Nature, 220, 984-986.

- NIEDERMEIER R.P. et SMITH V.R., 1948. A study of some blood constituents of cows not milked following parturition. J. Dairy Sci., 31, 684-685.
- NIEDERMEIER R.P., SMITH V.R. et WHITEHAIR C.K., 1949. Parturient paresis. III. A study of various blood constituents at parturition in mastectomized cows. J. Dairy Sci., 32, 927-934.
- NIELSEN S.P., 1970. Abolition of magnesium induced hypocalcaemia by acute parathyroidectomy in the cat. Acta Endocrinol., 64, 150-158.
- NIELSEN S.P., LEE P.B., MATTHEWS E.W., MOSELEY J.M. et WILLIAMS C., 1970. The effect of synthetic porcine alpha-calcitonin on the renal elimination of magnesium, sodium and inorganic phosphate in normal and parathyroidectomized rats. J. Endocr., 48, VII.
- NONIDEZ J.F., 1932. Further observations on the parafollicular cells of the mammalian thyroid. Anat. Rec., 53, 339-347.
- NUNEZ E.A., GOULD R.P., HAMILTON D.W., HAYWARD J.S. et HOLT S.J., 1967. Seasonal changes in the fine structure of the basal granular cells of the bat thyroid. J. Cell. Sci., 2, 401-410.
- NURMIO P., 1968. On plasma calcium regulation in paresis puerperalis hypocalcaemia in cattle. Acta Vet. Scand., suppl. 26, 7-100.
- OCHS B.O., JACKSON H.D., TIETZ W.J., BOTTA J.A. et HILL D.L., 1964. Hypocalcemic properties of parturient bovine plasma. J. Dairy Sci., 47, 542-545.
- O'DOR R.K., PARKES C.O. et COPP D.H., 1969a. Biological activities and molecular weights of ultimobranchial and thyroid calcitonins. Comp. Biochem. Physiol., 29, 295-300.
- O'DOR R.K., PARKES C.O. et COPP D.H., 1969b. Amino acid composition of salmon calcitonin. Canad. J. Biochem., 47, 823-825.
- OGATA E., SHIMAZAWA E., SUZUKI H., YOSHITOSHI P., ASANO H. et ANDO H., 1970. Androgens and enhancement of hypocalcemic response to thyrocalcitonin in rats. Endocrinol., 87, 421-426.
- OLIVEREAU M. et FONTAINE M., 1970. Observations sur les cellules C de quelques mammifères hibernants. C.R. Acad. Sci., D, 270, 155-158.
- O'RIORDAN J.L.H. et AURBACH G.D., 1968. Mode of action of thyrocalcitonin. Endocrinol., 82, 377-383.
- O'RIORDAN J.L.H., TASHJIAN A.H., MUNSON P.L., CONDLIFFE P.G. et AURBACH G.D., 1966. Thyrocalcitonin : ultracentrifugation in gradients of sucrose. Science, 154, 885-886.
- PAK C.Y.C., RUSKIN B. et CASPER A., 1970. Renal effects of porcine calcitonin in the dog. Endocrinol., 87, 262-270.
- PALMIERI G.M.A., THOMPSON J.S. et ELIEL L.P., 1969. Modifications of plasma magnesium by thyrocalcitonin, parathyroid extract and cortisone. Endocrinol., 84, 1504-1511.

- PALOYAN E., 1967. Recent developments in the early diagnosis of hyperparathyroidism. Surg. Clin. North Amer., 47, 61-69.
- PALOYAN E., PALYAN D. et HARPER P.V., 1967a. Glucagon induced hypocalcemia. Metab. Clin. Exptl., 16, 35-39.
- PALOYAN E., PALOYAN D. et HARPER P.V., 1967b. The role of glucagon hypersecretion in the relationship of pancreatitis and hyperparathyroidism. Surgery, 62, 167-173.
- PARKINSON D.K. et RADDE I.C., 1970. Calcitonin action on membrane ATPase : a hypothesis. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 466-471.
- PARSONS J.A., 1968. Effect of added protein on apparent potency of thyrocalcitonin. In Calcitonin. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells 1967. W. Heinemann Medical Books, London, 36-41.
- PARSONS J.A. et REYNOLDS J.J., 1968. Species discrimination between calcitonins. Lancet, 2, 1067-1070.
- PAUPE J. et TOMIEWICZ S., 1962. Les tétanies de l'enfant. Problèmes actuels d'endocrinologie et de Nutrition, 6, 261-283.
- PAYNE J.M., 1968. Milk-fever. Outlook on agriculture, 5, 266-272.
- PAYNE J.M., 1970. Some recent work on the pathogenesis and prevention of milk-fever. In Parturient Hypocalcemia, Academic Press, New York, 1-13.
- PAYNE J.M. et CHAMINGS J., 1964. The effect of thyroparathyroidectomy in the goat with particular respect to clinical effects and changes in the concentrations of plasma calcium, inorganic phosphorus and magnesium. J. Endocr., 29, 19-28.
- PAYNE J.M. et SANSOM B.F., 1966. Calcium metabolism in normal and thyro-parathyroidectomized goats. J. Physiol., 184, 433-443.
- PAYNE J.M., SANSOM B.F. et MANSTON R., 1963. The response of cows to experimentally induced hypocalcemia. I. Acute experimental hypocalcemia. Vet. Rec., 75, 588-592.
- PEARSE A.G.E., 1966a. The cytochemistry of the thyroid C cells and their relationship to calcitonin. Proc. Roy. Soc., B, Biol. Sci., 164, 478-487.
- PEARSE A.G.E., 1966b. Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones, with particular reference to calcitonin and the thyroid C cells. Vet. Rec., 79, 587-590.
- PEARSE A.G.E., 1966c. 5 hydroxytryptophan uptake by dog thyroid C cells and its possible significance in polypeptide hormone production. Nature, 211, 598-600.
- PEARSE A.G.E., 1968. Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. Proc. Roy. Soc. B., 170, 71-80.

- PEARSE A.G.E., 1970. The characteristics of the C cells and their significance in relation to those of other endocrine polypeptide cells and to the synthesis storage and secretion of calcitonin. In Calcitonin 1969. Proceedings of the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 125-140.
- PEARSE A.G.E., CARVALHEIRA A.F., 1967. Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of rodent thyroid C cells. Nature, 214, 929-930.
- PEARSE A.G.E. et WELSCH U., 1968. Ultrastructural characteristics of the thyroid C cells in the summer, autumn and winter states of the hedgehog (*Erinaceus Europaeus*) with some reference to other mammalian species. Z. Zellforsch., 92, 596-609.
- PECHET M.M., 1969. Interrelations of parathyroid hormone, human growth hormone and thyrocalcitonin. In Proc. 6th Pan. Am. Congr. Endocrinol., Mexico, 1965. Excerpta Med. Amsterdam, Intern. Congress series n° 112, 179.
- PHILLIPPO M., BATES R.F.L. et LAWRENCE C.B., 1971. The effect of progesterone on calcitonin release in the sheep. J. Endocr., 49, VI-VII.
- PHILLIPPO M., BRUCE J.B. et LAWRENCE C.B., 1970. The effect of adrenaline on calcitonin secretion in conscious sheep. J. Endocr., 46, XII-XIII.
- PHILLIPPO M., CARE A.D. et HINDE R.F., 1969. The effect of thyrocalcitonin in neonatal animals. J. Endocr., 43, XV-XVII.
- PHILLIPPO M. et HINDE F., 1968. Age and sexe as factors in the response to thyrocalcitonin. In Calcitonin. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells 1967, W. Heinemann Medical Books, London, 25-31.
- PIC P., 1970. Etude de la régulation de la calcémie et de la phosphatémie foetales chez le Rat. Rôle des parathyroïdes foetales et du placenta. Thèse de Doct. Etat Sci. Nat., Paris, 142 pages.
- PITT-RIVERS R., 1950. Mode of action of antithyroid compounds. Physiol. Rev., 30, 194-207.
- POTTS J.T., NIALI H.D., KEUTMANN H.T., BREWER H.D. et DEFTOS L.J., 1968. The amino acid sequence of porcine thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 59, 1321-1328.
- PROCKOP D.J. et KIVIRIKKO K.I., 1967. Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. Ann. Intern. Med., 66, 1243-1266.
- RADDE I.C., PARKINSON D.K., WITTERMAN E.R. et HOFFKEN B., 1970. Magnesium and calcium as stimuli to in vitro release of calcitonin from thyroid slices. In Calcitonin 1969. Proc. Second International Symposium, W. Heinemann, London, 376-380.
- RADDE I.C., WITTERMAN E.R. et PENSUWAN S., 1968. Effect of thyroid and parathyroid on hypocalcemia occurring after a magnesium load. Endocrinol., 83, 1285-1292.
- RAISZ L.G., 1965. Bone resorption in tissue culture. Factors influencing the response to parathyroid hormone. J. Clin. Invest., 44, 103-116.

- RAISZ L.G., AU W.Y.W., FRIEDMAN J. et NIEMAN I., 1967. Thyrocalcitonin and bone resorption. Studies employing a tissue culture bioassay. Amer. J. Med., 43, 684-690.
- RAISZ L.G. et NIEMAN I., 1967. Early effects of parathyroid hormone and thyrocalcitonin on bone in organ culture. Nature, 214, 486-487.
- RAISZ L.G. et NIEMAN I., 1969. Effect of phosphate, calcium and magnesium on bone resorption in tissue culture. Endocrinol., 85, 446-452.
- RAMAN A., 1970. The effect of glucagon on plasma calcium ion activity in the monkey. Q. Jl. Exp. Physiol., 55, 271-274.
- RAMAN A., 1971. The effects of thyrocalcitonin on ionic and total plasma calcium in monkeys. Horm. Metab. Res., 3, 48-51.
- RAMBERG C.F., MAYER G.P., KRONFELD D.S., PHANG J.M. et BERMAN M., 1970. Calcium kinetics in cows during late pregnancy, parturition and early lactation. Amer. J. Physiol., 219, 1166-1177.
- RASMUSSEN H., ANAST C. et ARNAUD C., 1967. Thyrocalcitonin, EGTA, and urinary electrolyte excretion. J. Clin. Invest., 46, 746-752.
- RASMUSSEN H. et TENENHOUSE A., 1968. Cyclic adenosine monophosphate Ca^{++} and membranes. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A., 59, 1364-1370.
- REISS E., CANTERBURY J.M., BERGOVITZ M.A. et KAPLAN E.L., 1970. The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in man. J. Clin. Invest., 49, 2146-2149.
- REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17, 208-212.
- REYNOLDS J.J. et DINGLE J.T., 1968. Time course of action of calcitonin on resorbing mouse bones in vitro. Nature, 218, 1178-1179.
- RICHET G., ARDAILLOU R., MEYEROVITCH A. et FILLASTRE J.P., 1968. Effet de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du phosphore, du calcium, du sodium et du chlore. Actual. Néphrol. Hop. Necker 287-300.
- ROBERTSON A., 1949. Some observations on milk-fever. Vet. Rec., 61, 333-339.
- ROBERTSON D.R., 1968. The ultimobranchial body in *Rana pipiens*. VI. Hypercalcemia and secretory activity evidence for the origin of calcitonin. Z. Zellforsch., 85, 453-465.
- ROBINSON C.J., MARTIN T.J. et MAC INTYRE I., 1966. Phosphaturic effect of thyrocalcitonin. Lancet, 2, 83-84.
- ROBINSON C.J., MARTIN T.J., MATTHEWS E.W. et MAC INTYRE I., 1967. Mode of action of thyrocalcitonin. J. Endocr., 39, 71-79.

- ROBINSON C.J., MATTHEWS E.W. et MAC INTYR I., 1968. The effect of parathyroid hormone and thyrocalcitonin on the intestinal absorption of calcium and magnesium. In Les Tissus Calcifiés, 5ème Symposium européen, Soc. Edition Enseigt. Sup., Paris, 279-282.
- ROBINSON G.A., BUTCHER R.W. et SUTHERLAND E.W., 1967. Adenyl cyclase as an adrenergic receptor. Annals N.Y. Acad. Sci., 139, 702-723.
- ROHR H.P., HASLER K., 1968. The parafollicular cells of the thyroid gland as a possible site of production of thyrocalcitonin. An electron microscopic examination of the thyroid gland of the rat after stimulation by calcium acetate and vitamin D₃. Experientia, 24, 152-153.
- ROJO-ORTEGA J.M., BRECHT H.M. et GENEST J., 1971. Effects of magnesium-deficient diet on the thyroid C cells and parathyroid gland of the dog. Virchows Arch. Abt. B. Zellpath., 7, 81-89.
- ROSSELIN G., 1968. Progrès de l'analyse biochimique des milieux complexes par la méthode radioimmunologique. Intérêt en diabétologie et en endocrinologie. Presse méd., 76, 2149-2152.
- RUSSEL R.G.G. et FLEISCH H., 1968. The renal effects of thyrocalcitonin in the pig and dog. In Calcitonin. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells, 1967, W. Heinemann, London, 297-305.
- RYAN W.G., SCHWARTZ T.B. et NORTROP G., 1970. Experiences in the treatment of Paget's disease of bone with mithramycin. J.A.M.A., 213, 1153-1157.
- RYDBERG C., 1969. Hämatologische und Blutchemische Untersuchungen von klinisch gesunden sowie an primärer Ketose und puerperaler Parese erkrankten Rindern. Acta Vet. Scand., suppl. 27, 86 pages.
- SANSOM B.F., 1969. Calcium metabolism of cows at parturition and during milk production. J. Agric. Sci., 72, 455-458.
- SANSOM B.F., 1969. Variations in the relative cortical mass of tail bones of cows during pregnancy and lactation. Br. Vet. J., 125, 454-457.
- SATO T., ISHIKAWA K., AOI T., KITOH J. et SUGIYAMA S., 1966. Electron microscopic observations on the development of the parafollicular cells from the ultimobranchial cyst in the thyroid gland of the mouse. Okajimas Fol. Anat. Jap., 42, 91-105.
- SATO Y., 1933. Studies on calcium metabolism in fetus. Trans. Soc. Pathol. Japon., 23, 257-261.
- SCEPOVIC M., 1963. Contribution à l'étude de la glande thyroïde chez les rats épiphysectomisés. Ann. Endocr., 24, 371-376.
- SCHAMS D. et KARG H., 1969. Radioimmunologische Bestimmung von Prolaktin im Blutserum von Rind. Milchwissenschaft, 24, 263-265.

- SCHAMS D. et KARG H., 1970. Untersuchungen über Prolaktin im Rinderblut mit einer radioimmunologischen Bestimmungsmethode. Zbl. Vet. Med. A, 17, 193-212.
- SCHIMKE F.N., HARTMANN W.H., PROUT T.E. et RIMOIN D.L., 1968. Syndrome of bilateral pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma and multiple neuroinvas. A possible regulatory defect in the differentiation of chromaffin tissues. New England. J. Med., 279, 1-7.
- SCHLUETER R.J., ALDRED J.P. et FISHER J.D., 1968. Thyrocalcitonin : bioassay characteristics of purified preparations. Acta Endocrinol., 58, 268-276.
- SCHLUETER R.J. et CALDWELL A.L., 1967. Thyrocalcitonin : parameters of bioassay. Endocrinol., 81, 854-860.
- SHEIM H.M., 1971. Control of melatonin synthesis by noradrénaline in rat pineal culture. In The pineal gland, Symposium of the Ciba Foundation, Churchill Livingstone, London, 197-207.
- SHERWOOD L.M., MAYER G.P., RAMBERG C.F., KRONFELD D.S., AURBACH G.D. et POTTS J.T., 1968. Regulation of parathyroid hormone secretion : proportionnal control by calcium, lack of effect of phosphate. Endocrinol., 83, 1043-1051.
- SHERWOOD L.M., POTTS J.T., CAKE A.D., MAYER G.P. et AURBACH G.D., 1966. Evaluation by radioimmunoassay of factors controlling the secretion of parathyroid hormone. Intravenous infusion of calcium and ethylenediamine tetraacetic acid in the cow and goat. Nature, 209, 52-55.
- SHIM S.S., COPP D.H. et PATTERSON F.P., 1968. Effects of adrenaline on plasma calcium, phosphate and blood glucose in the dog. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 46, 43-45.
- SIEBER F., BRUGGER M., KAMBER B., RINIKER B. et RITTEL W., 1968. Menschliches calcitonin. IV. Die synthese von calcitonin M. Helv. Chim. Acta, 51, 2057-2061.
- SJOLLEMA B., 1929. Wesen und Therapie der Paresis Puerperalis und der Symptomen Gruppen die damit verwandt sind. Deut. Tierärztl. Wochenschr., 37, 17.
- SMITH J.E. et BLOSSEY T.H., 1947. Parturient Paresis. I. The incidence of Parturient Paresis and changes in the total blood serum calcium at parturition in prepartum milked cows. J. Dairy Sci., 30, 861-866.
- SNEDECOR G.W. et COCHRAN W.G., 1967. Statistical methods, Sixth Edition, Iowa State University Press, 593 pages.
- SOLCIA E., VASSALLO G. et CAPELLA C., 1968. Selective staining of endocrine cells by basic dyes after acid hydrolysis. Stain Technology, 43, 257-263.
- STACHURA J. et PEARSE A.G.E., 1970. Thyroid C cells in experimental hyper and hypomagnesaemia. Virchows Arch. Abt. B. Zellpath., 5, 173-186.
- STERN P.H. et BELL N.H., 1970. Effects of glucagon on serum calcium in the rat on bone resorption in tissue culture. Endocrinol., 87, 111-117.

- STOECKEL M.E., 1970. Etude ultrastructurale de la parathyroïde et des cellules C chez le Mammifère et chez l'Oiseau. Thèse Doct. Etat Sc. Nat., Strasbourg, 105 pages.
- STOECKEL M.E. et POITE A., 1969. Localisation ultimobranchiale et thyroïdienne des cellules C (cellules à calcitonine) chez deux columbidae le pigeon et le tourtereau. Z. Zellforsch., 102, 376-386.
- STOECKEL M.E. et POITE A., 1970. Origine embryonnaire et différenciation sécrétoire des cellules à calcitonine (cellules C) dans la thyroïde foetale du rat. Z. Zellforsch., 106, 251-268.
- STOTT G.H., 1965. Parturient paresis related to dietary phosphorus. J. Dairy Sci., 48, 1485-1489.
- STOTT G.H. et SMITH V.R., 1957. Parturient Paresis. VIII. Results of parathyroidectomy of cows. J. Dairy Sci., 40, 897-904.
- STOTT G.H. et SMITH V.R., 1964. Histology, cytology and size of the parathyroids in bovine related to age and function. J. Dairy Sci., 47, 426-432.
- STURTRIDGE W.C. et KUMAR M.A., 1967. Calcium homeostasis in chronic thyrocalcitonin deficiency. Endocrinol., 81, 1297-1300.
- STURTRIDGE W.C. et KUMAR M.A., 1968a. Assay of calcitonin in human plasma. Lancet, 1, 725-726.
- STURTRIDGE W.C. et KUMAR M.A., 1968b. An unproved bioassay for calcitonin. J. Endocr., 42, 501-503.
- SUNDER-PLASSMAN P., 1941. Basedow Studien, Springer, Berlin, 135 pages.
- SUTHERLAND E.W., ØYE I. et BUTCHER R.W., 1965. The action of epinephrine and the role of the adenyl-cyclase system in hormone action. Recent Progr. Horm. Res., 21, 623-646.
- SUTHERLAND E.W. et ROBINSON G.A., 1966. The role of 3' 5'-AMP in response to catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev., 18, 145-161.
- SYMONDS H.W., MANSTON R., PAYNE J.M. et SANSOM B.F., 1966. Changes in the calcium and phosphorus requirements of the dairy cow at parturition with particular reference to the amounts supplied to the foetus in utero. Brit. Vet. J., 122, 196-200.
- TALMAGE R.V. et KENNEDY J.W., 1969. Influence of the thyroid on the response of rats to administered calcitonins. Endocrinol., 84, 1026-1031.
- TALMAGE R.V. et KENNEDY J.W., 1970. Parathyroid hormone and thyrocalcitonin function in adrenalectomized rats. Endocrinol., 86, 1075-1079.
- TALMAGE R.V., NEUENSCHWANDER J. et KRAINTZ L., 1965. Evidence for the existence of thyrocalcitonin in the rat. Endocrinol., 76, 103-107.
- TALMAGE R.V., PARK H.Z. et JEE W., 1970. Parathyroid hormone and thyrocalcitonin function in cortisol-treated rats. Endocrinol., 86, 1080-1084.

- TANZER F.S., KENNEDY J.W. et TALMAGE R.V., 1970. A comparison of the effects of thyrocalcitonin and glucagon on plasma calcium and phosphate. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 133, 500-505.
- TASHJIAN A.H., 1965. Homeostasis of plasma calcium : effects of actinomycin D, parathyroidectomy and thyrocalcitonin. Endocrinol., 77, 375-381.
- TASHJIAN A.H., 1966. Effects of parathyroidectomy and cautery of the thyroid gland on the plasma calcium level of rats with auto-transplanted parathyroid glands. Endocrinol., 78, 1144-1153.
- TASHJIAN A.H., 1969. Immunoassay of thyrocalcitonin. I. The method and its serological specificity. Endocrinol., 84, 140-148.
- TASHJIAN A.H., FRANTZ A.G. et LEE J.B., 1966. Pseudohypoparathyroidism : assays of parathyroid hormone and thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 56, 1138-1142.
- TASHJIAN A.H. et MELVIN K.J.W., 1968. Medullary carcinoma of the thyroid gland. Studies of thyrocalcitonin in plasma and tumor extracts. New England. J. Med., 279, 279-283.
- TASHJIAN A.H. et MUNSON P.L., 1965. Antibodies to porcine thyrocalcitonin : effects on the hypocalcemic activity of calf, rat and monkey thyroid extracts. Endocrinol., 77, 520-528.
- TASHJIAN A.H. et VOELKEL E.F., 1967. Decreased thyrocalcitonin in thyroid glands from patients with hyperparathyroidism. J. Clin. Endocr. Metab., 27, 1353-1357.
- TASHJIAN A.H. et VOELKEL E.F., 1968. Studies of the inactivation of thyrocalcitonin by serum. In Parathyroid hormone and thyrocalcitonin, Excerpta Medica, Amsterdam, 108-120.
- TASHJIAN A.H. et WARNOCK D.R., 1967. Stability of the hypocalcemic activity of porcine thyrocalcitonin. Endocrinol., 81, 306-318.
- TAUBER S.D., 1967. The ultimobranhial origin of thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 58, 1684-1687.
- TEITELBAUM S.L., MOORE K.E. et SHIEBER W., 1970. C cells follicles in the dog thyroid : demonstration by in vivo perfusion. Anat. Rec., 168, 69-78.
- TENENHOUSE A., ARNAUD C. et RASMUSSEN H., 1965. The isolation and characterization of thyrocalcitonin. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 53, 818-822.
- THERIEZ M., GRENET N. et MOLENAT G., 1971. Le tourteau de colza dans l'alimentation animale . IV. Etude comparée de l'appétibilité et de la valeur alimentaire des tourteaux de colza et de lin pour la brebis gestante et l'agneau à l'engraissement ; incidence sur la glande thyroïde. Ann. Zootech., (sous presse).
- THOMPSON J.S., PALMIERI G.N.A., ELIEL L.P. et CUTLER G.A., 1968. Effects of cortisone and adrenalectomy on the responses to thyrocalcitonin. Endocrinol., 83, 470-474.

- TODD A.S., FOSGATE O.T., CRAGLE R.G. et KAMAL T.H., 1962. Parathyroid action on calcium, phosphorus, magnesium and citric acid in dairy cattle. Amer. J. Physiol., 202, 987-990.
- TOVERUD S.L. et MUNSON P.L., 1956. The influence of the parathyroids on the calcium concentration of milk. Ann. N.Y. Acad. Sci., 64, 336.
- TWARDOCK A.R. et COMAR C.L., 1961. Calcium and strontium secretion from blood to milk. Amer. J. Physiol., 201, 645-650.
- TWAROG F.J. et ROSE N.R., 1968. The production of thyroid autoantibodies in mice. J. Immunol., 101, 242-250.
- UNGER R.H., OHNEDA A., VALVERDE I., EISENTRAUT A.M., EXTON J., HARRIS V., JONES A.M. et THOMPSON G., 1968. Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. J. Clin. Invest., 47, 48-65.
- VAGG M.J. et PAYNE J.M., 1970. The effect of ammonium chloride induced acidosis on calcium metabolism in ruminants. Br. Vet. J., 126, 531-537.
- VANCE J.E., BUCHANAN K.D., CHALLONER D.R. et WILLIAMS R.H., 1968. Effect of glucose concentration on insulin and glucagon release from isolated islets of Langerhans of the rat. Diabetes, 17, 187-193.
- VAN DER WALT K., ADELAAR T.F. et TERBLANCHE M., 1966. The problem of the milk-fever syndrome in the western province. J.S. Afr. Med. Ass., 37, 47-51.
- VAN SOEST P.J. et BLOSSER T.H., 1954. A detailed study of certain blood constituents in normally calving dairy cows and in dairy cows with parturient paresis. J. Dairy Sci., 37, 185-191.
- VOELKEL E.F. et TASHJIAN A.H., 1971. Measurement of thyrocalcitonin like activity in urine of patients with medullary carcinoma. J. Clin. Endocr. Metab., 32, 102-109.
- WALLACH S., CHAUSMER A., MITTLEMAN R. et DIMICH A., 1967. In vivo inhibition of bone resorption by thyrocalcitonin. Endocrinol., 80, 61-64.
- WARD G.M., 1956. Calcium balances and changes of some blood and urinary constituents as related to parturient paresis in dairy cows. Ann. N.Y. Acad. Sci., 64, 361-369.
- WARD G.M., BLOSSEI T.H., ADAMS M.F. et CRILLY J.B., 1953. Blood levels of some inorganic and organic constituents in normal parturient cows and cows with parturient paresis. J. Dairy Sci., 36, 39-44.
- WASE A.W., PETERSON A., RICKES E. et SOLEWSKI J., 1966. Some effects of thyrocalcitonin on the calcium metabolism of the rat. Endocrinol., 79, 687-691.
- WASE A.W., SOLEWSKI J., RICKES E. et SEIDENBERG J., 1966. Action of thyrocalcitonin on bone. Nature, 214, 388-389.

- WATSON M., 1958. Staining of tissue for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475-478.
- WEICHERT R.F., 1970. The neural ectodermal origin of the peptide-secreting endocrine glands. Amer. J. Med., 49, 232-241.
- WELLS H. et LLOYD W., 1968. Inhibition of the hypocalcemic action of thyrocalcitonin by theophylline and isoproterenol. Endocrinol., 82, 468-474.
- WELLS H. et LLOYD W., 1969. Hypercalcemic and hypophosphatemic effects of dibutyryl cyclic AMP in rats after parathyroidectomy. Endocrinol., 84, 861-867.
- WELSCH U., FLITNEY E. et PEARSE A.G.E., 1969. Comparative studies on the ultrastructure of the thyroid parafollicular C cells. J. Microscopy, 89, 83-94.
- WILLIAMS G.A., BOWSER E.N. et HENDERSON W.J., 1969. Mode of hypocalcemic action of glucagon in the rat. Endocrinol., 85, 537-541.
- WILLIAMS V.J. et CHRISTIAN K.R., 1959. Blood chemistry and haematology in sheep in a sudden decrease in food intake. New Zealand J. Agric. Res., 2, 677-682.
- WITTERMAN E.R., CHERIAN G.A. et RADDE I.C., 1969. Calcitonin content of ultimobranchial body tissue in chicks, pullets and laying hens. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 47, 175-180.
- YASUMURA S., BURK M., CHAUSMER A., MITLEMAN R. et WALLACH S., 1970. Thyroidal content of thyrocalcitonin in hypothyroid and hyperthyroid rats. Endocrinol., 81, 256-260.
- YOUNG A.B., CARE A.D. et DUNCAN T., 1968. Some observations on the light cells of the thyroid gland of the pig in relation to thyrocalcitonin production. J. Anat., 102, 275-288.
- YOUNG B.A. et LEBLOND C.P., 1965. The light cell as compared to the follicular cell in the thyroid gland of the rat. Endocrinol., 73, 669-686.
- YOUNG D.M., 1971a. Thyrocalcitonin content of ultimobranchial tumors from bulls. Pathol. Veterinaria, (sous presse).
- YOUNG D.M., 1971b. The effect of a low calcium diet and vitamin D on thyrocalcitonin in cows. Endocrinol., (sous presse).
- YOUNG D.M. et CAPEN C.C., 1968. Bovine parturient paresis and hypocalcemia. In Calcitonin. Proceedings of the Symposium on Thyrocalcitonin and the C cells, W. Heinemann, London, 180-191.
- YOUNG D.M. et CAPEN C.C., 1970. Thyrocalcitonin : response to experimental hypercalcemia induced by vitamin D in cows. In Calcitonin 1969. Proceedings on the Second International Symposium, W. Heinemann, London, 141-153.
- YOUNG V.R., LUICK J.R. et LOFGREEN G.P., 1966. The influence of dietary phosphorus intake on the rate of bone metabolism in sheep. Br. J. Nutr., 20, 727-732.

- ZECHEL G., 1933. Observations on the follicular cycle and on the presence of "macrothyrocytes" in the human thyroid. Anat. Rec., 56, 119-130.
 - ZEHL A., 1908. Das Festliegen der Kühe nach der Geburt. Tierärztl. Wochenschr., 24, 117-122.
-

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

(Décret n° 67-750 du 29 Août 1967)

Clermont-Ferrand, le 10 Mai 1971.

Le Président,



[Handwritten signature]

R. KOHLMULLER

